

2016年度 博士論文

共結晶子交換反応を用いた *in silico* 共結晶形成予測モデルの評価

Validation of *in silico* model for predicting co-crystal formation  
using co-crystal former exchange reaction

向田 睦

# 目次

序論	1
第1章 共結晶子交換反応を用いたカフェイン共結晶の熱力学的安定性序列の決定および <i>in silico</i> モデルの評価への応用	11
第1節 背景	11
第2節 実験	12
第1項 試薬	12
第2項 共結晶の調製	12
第3項 CCF 交換反応	13
第4項 粉末 X 線回折測定 (PXRD)	13
第3節 結果および考察	14
第1項 カフェイン共結晶の調製	14
第2項 CCF 交換反応を用いたカフェイン共結晶の熱力学的安定性序列の決定	15
第3項 <i>in silico</i> モデルの評価	22
第4節 小括	24
第2章 共結晶子交換反応を用いたアセトアミノフェン共結晶およびテオフィリン共結晶の熱力学的安定性序列の決定およびその <i>in silico</i> および温度パラメータとの相関	25
第1節 背景	25
第2節 実験	26
第1項 試薬	26
第2項 共結晶の調製	26
第3項 共結晶子交換反応	27
第4項 粉末 X 線回折測定	27
第5項 示差走査熱量測定	28
第3節 結果および考察	28
第1項 CCF 交換反応による各共結晶の熱力学的安定性序列の決定	28
第2項 <i>in silico</i> パラメータの評価	34
第3項 熱分析結果に基づく考察	36
第4項 結晶構造に基づく考察	37

第4節	小括	39
第3章	カフェイン-クエン酸共結晶の3つの結晶多形における物理化学的性質の評価	40
第1節	背景	40
第2節	実験	40
第1項	試薬	40
第2項	I形結晶およびIII形結晶の調製	41
第3項	II形結晶の調製	41
第4項	粉末X線回折測定	41
第5項	ラマン散乱分光測定	42
第6項	赤外吸収分光測定	42
第7項	熱分析	42
第8項	示差走査熱量-粉末X線回折同時測定(DSC-XRD)	42
第9項	動的水蒸気吸脱着測定	43
第10項	スラリー競合法による熱力学的安定性序列の決定	43
第3節	結果	43
第1項	粉末X線回折図	43
第2項	ラマンスペクトル	44
第3項	赤外吸収スペクトル	45
第4項	熱分析結果	46
第5項	示差走査熱量-粉末X線回折測定の結果	47
第6項	動的水蒸気吸脱着測定の結果	48
第7項	熱力学的安定性序列の決定	49
第4節	考察	50
第5節	小括	52
総括		53
謝辞		55
参考文献		56
対象論文		69

## 略号一覽

AA	Anthranilic acid
AC	Acetaminophen
AC-MA	Acetaminophen – maleic acid co-crystal
AC-OX	Acetaminophen – oxalic acid co-crystal
AC-TH	Acetaminophen – theophylline co-crystal
BCS	Biopharmaceutics Classification System
Cbz	Carbamazepine
CA	Caffeine
CA-HY	Caffeine – <i>p</i> -Hydroxybenzoic acid co-crystal
CA-CI	Caffeine – Citric acid co-crystal
CA-MA	Caffeine – maleic acid co-crystal
CA-MO	Caffeine – malonic acid co-crystal
CA-OX	Caffeine – Oxalic acid co-crystal
CCF	Co-crystal Former
CMC	Chemistry, Manufacturing and Controls
CSD	Cambridge Structural Database
DSC	Differential Scanning Calorimetry
DVS	Dynamic Vapor Sorption
EMA	European Medicines Agency
FDA	Food and Drug Administration
GA	Glutaric acid
HTS	High Throughput Screening
LAG	Liquid-Assisted Grinding
MA	Maleic acid
MA-TH	Maleic acid – theophylline co-crystal
MO	Malonic acid
OX	Oxalic acid
OX-TH	Oxalic acid – theophylline co-crystal
SA	Salicylic acid
SD	Sulfonamide Derivative
SUC	Succinic acid
TGA	Thermogravimetry
TH	Theophylline
XRD	X-ray Diffraction

## 序論

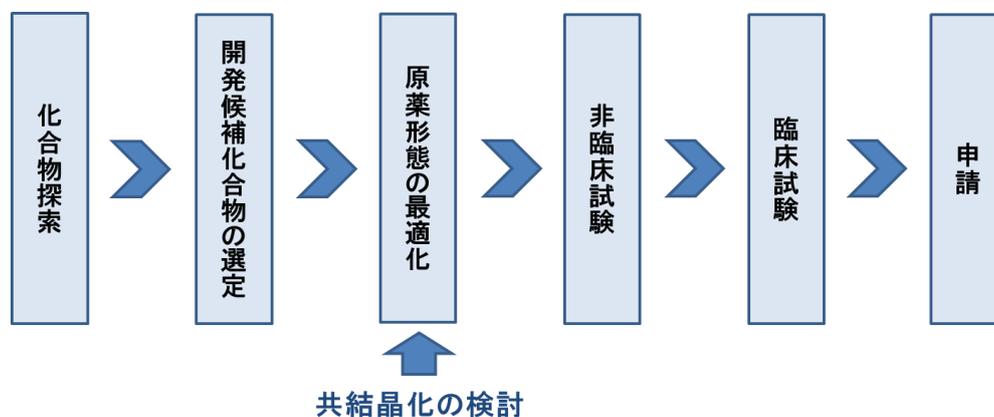
### 1. 医薬品開発における共結晶化の位置づけ

本研究のメインテーマである医薬品の共結晶化は、薬物分子と対分子の非イオン結合による複合固体を形成させる技術である。医薬品の共結晶化は、通常、医薬品開発における原薬形態最適化の段階で実施される。そこでまずは、医薬品開発の流れを概説し、医薬品開発における共結晶化の役割を説明する。

医薬品に用いられる化合物には、低分子化合物、ペプチドおよびタンパク質などがあるが、経口医薬品には低分子化合物が用いられる。低分子医薬品の研究開発は、化合物探索、開発候補化合物の選定、原薬形態の最適化、非臨床試験、臨床試験の順に進められる(図 I)。

<sup>1</sup> 化合物探索の段階では、従来、論文や特許情報等に基づくシード化合物の検索や、High Throughput Screening (HTS) によるヒット化合物の探索が行われてきた。また、近年では、Fragment Based Drug Design や de novo 設計の手法を用いてシード化合物が見出される場合も多い。この段階の化合物は、酵素などの薬物ターゲットに対して弱いながらも作用し薬理活性を有するが、医薬品として開発するには薬物動態や安全性などが不十分な場合が多い。そこで、引き続き、ヒット化合物の中から薬理活性、物性、安全性の側面から良好とされるリード化合物が見出される。その後、Structure Based Drug Design や Ligand Based Drug Design などの手法を用いてリード化合物の化学構造を変換し、薬理活性、物性、安全性および特許性に関して多面的な最適化が行われ、開発候補化合物が選定される。開発候補化合物の選定後、薬物の原薬形態(固体状態)の最適化が行われ、塩結晶、共結晶、非晶質などの中から、開発に適した原薬形態が選択される。一般的には、経口固形製剤の原薬形態は結晶であることが望ましいため、結晶スクリーニングが実施される。原薬形態最適化の後、非臨床試験段階では、動物を用いて候補化合物の有効性、安全性を評価すると同時に、ヒトにおける用法・用量設定の基礎データを取得する。また、この段階では、医薬品

製造（Chemistry, manufacturing and controls（CMC））に関する研究が始まり、原薬・製剤製造の検討やその安定性、純度試験などの物性測定が進められる。非臨床試験にて、候補化合物の有効性と安全性が確認されると、臨床試験へと進み、第Ⅰ相～第Ⅲ相試験により、ヒトにおける薬物動態および有効性、安全性を検証する。臨床試験の結果、十分な有効性および安全性が確保され、規制当局の審査を通過すると、製造販売が承認される。このように、共結晶を含む医薬品原薬形態の最適化は、医薬品開発の中盤で行われ、その後の医薬品開発の成否を左右する大きな要因となる。



図Ⅰ 医薬品開発の流れと共結晶化の位置付け

## 2. 経口固形製剤の構造

上述のように、リード化合物の構造最適化により医薬品開発候補化合物が得られるが、このままでは経口固形製剤として製剤化できないため、原薬形態（固体状態）を最適化する必要がある（図Ⅱ）。開発候補化合物の原薬形態は、製剤の生物薬剤学的特性、製造性、および保存安定性に影響する重要な要素である。

薬物の原薬形態は図Ⅲのように分類される。医薬品に用いられる結晶には、同じ分子から構成されるが、結晶構造が異なる結晶多形や、他の分子と相互作用して結晶化した塩結晶、共結晶や溶媒和物が存在し、それらは溶解性、保存安定性や製造適性などにおいて異

なった性質を示す。塩結晶とは、酸性もしくは塩基性の官能基を有する化合物と塩基性もしくは酸性の官能基を有する他の分子（カウンターイオン）がイオン結合により相互作用し、結晶化したものを言う。また、共結晶とは、化合物と他の分子（共結晶子；Co-crystal former（CCF））が水素結合やファンデルワールス力のような弱い相互作用により結晶化したものを言う。<sup>2</sup>

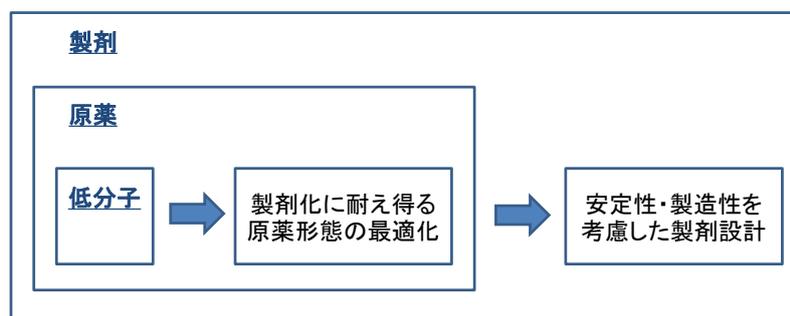


図 II 一般的な経口固形製剤の構造

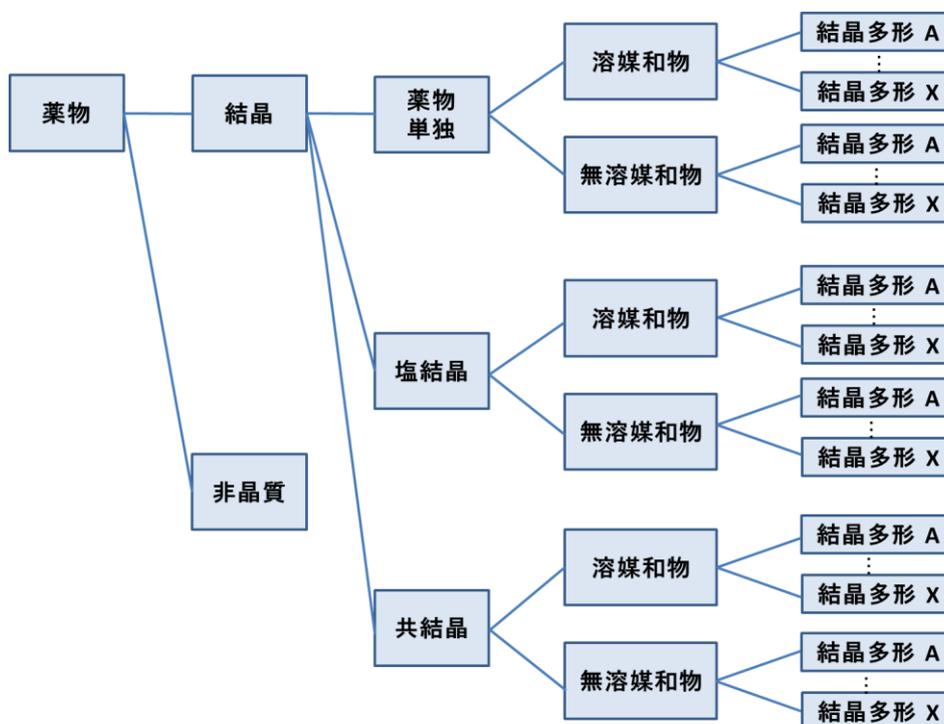


図 III 薬物の原薬形態の分類

経口製剤の場合、通常、医薬品候補化合物は固体として製剤化される。経口医薬品の原薬形態としては、結晶（原薬単独の結晶、塩結晶あるいは共結晶）が選択される場合が多い。結晶化することで純度を向上させることができ、さらに、結晶は非晶質に比べて熱力学的に安定であり、製造もしくは保管中に化学分解や相転移が生じる可能性が低いためである。

原薬は製剤化されて医薬品となるが、製剤の種類には大きく分類すると、経口医薬品と非経口医薬品がある。経口医薬品には、錠剤、カプセル剤、散剤などがあり、非経口医薬品には、注射剤、経皮吸収剤、坐剤などがある。これらの剤形は、原薬の物性や、疾患の種類、対象となる患者層などによって選択される。製剤化の主な目的は、原薬の安定性や製造性、成形性の向上、においや味に対するマスキングなどである。

医薬品における共結晶の取り扱いは、当初、Food and Drug Administration (FDA) および European Medicines Agency (EMA) で異なっており、CMC に携わる研究者にとって議論的となっていた。<sup>3,4</sup> FDA のガイダンスによると、<sup>5</sup> 共結晶は製剤中間体であり、塩結晶のような原薬形態としては扱われない。一方、EMA のリフレクションペーパーによると、<sup>6</sup> 共結晶も塩結晶と同様、原薬形態として扱われる。製薬企業にとって、この違いは大きく、申請する国によって原薬形態の扱いが変わってしまう可能性があった。しかし、2016年8月にFDAのガイダンスが改訂され、共結晶を原薬として扱うように変更された。<sup>7</sup> これにより、欧・米での見解は統一されたが、現在、医薬品医療機器総合機構から共結晶に関する取扱いについての通知はなく、日本当局の今後の動向に注目が集まっている。

### 3. 難水溶性改善策としての共結晶化

近年、医薬品候補化合物として難水溶性化合物が増加している(図IV)。この理由として、創薬手法の変化と化合物の複雑化・高分子量化が挙げられる。<sup>8</sup> 古くから行われている化合物の薬理評価は細胞などを用いた間接的なものであった。しかし、近年は科学技術の進歩

から、薬物ターゲットとなるタンパク質の結晶構造が分かり、これを基に作用部位に合った形の分子を創ることができるようになってきている。このような手法は **Structure-Based Drug Design** と呼ばれ、多くの研究が行われている。<sup>9-12</sup> また、評価の際も直接的にタンパク質との相互作用を確認することができるようになってきた。具体的に示すと、タンパク質とその作用部位に結合した化合物の結晶を調製し、その単結晶構造解析を行うことにより、薬物ターゲットと化合物間の相互作用を確認することができる。また、表面プラズモン共鳴という分析手法は、固定した薬物ターゲットに化合物の溶液を流し、溶液の屈折率の違いからターゲットと化合物間の相互作用を確認できる。<sup>13</sup> この手法は用いる試料量が少なく済むため、初期のスクリーニングとしても適しており、多くの研究が行われている。<sup>14,15</sup> これらの手法によって、薬物ターゲットに対してより選択性の高い化合物を選定することが可能になったが、一方で、細胞を用いたスクリーニングのように水溶性が考慮された評価ではないため、難水溶性化合物が選定されやすい傾向にある。また、合成技術の向上により、これまでよりも複雑な化学構造を構築することができるようになり、それに伴い分子量が増えていることも難水溶性化合物が増加している原因と考えられる。

このような難水溶性化合物は一般的に経口吸収性が低い。消化管内に入った医薬品は、製剤の崩壊により原薬粒子が放出され、その後、粒子中の薬物分子が溶解し、薬物分子は消化管壁を経て体内に吸収される（図 V）。経口吸収性が低い化合物は、ヒトの薬物動態予測が困難であり、また、血中動態のばらつきや医薬品の有効性・安全性に影響を及ぼす可能性がある。さらに、低経口吸収性の化合物からなる医薬品は、高用量でサイズの大きな製剤となる可能性が高く、患者の服用時の負担にもつながる。

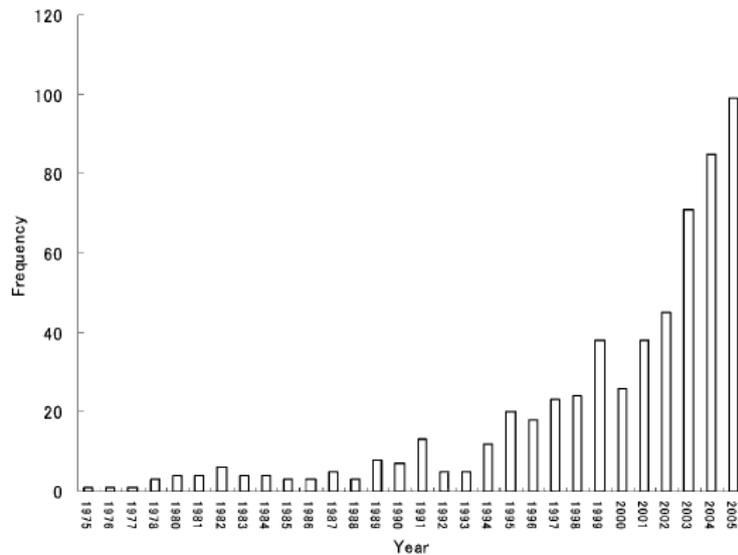


図 IV 難水溶性薬物を題材とした論文の報告数の推移<sup>16</sup>

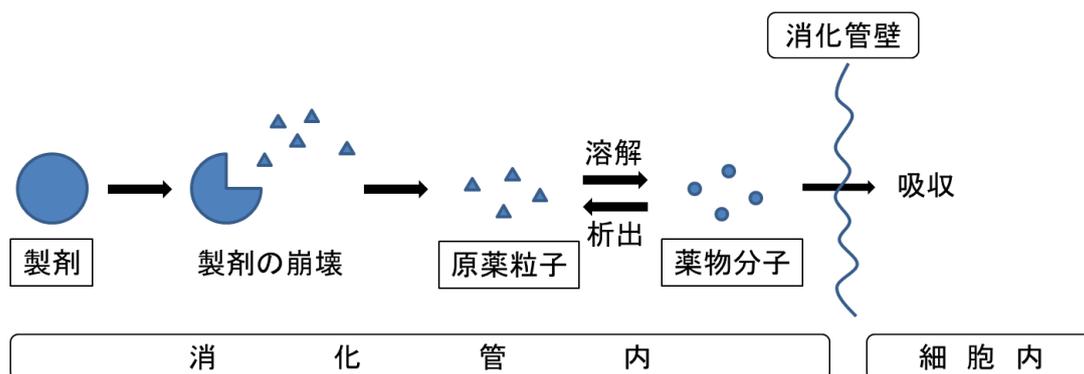


図 V 薬物の経口吸収過程

難水溶性の改善方法として代表的な例としては、プロドラッグ化、原薬形態最適化、および製剤的手法の 3 つが挙げられる。プロドラッグ化は、リード化合物の最適化の際になされる改善手法であり、難水溶性の薬物に対して親水性のプロドラッグ部位を導入することで水溶性を向上させる。体内で安定に吸収されるように活性体に官能基を導入し、その官能基が酵素などの作用により体内で外れ、薬理活性をもつ化合物へ変換するというものである。<sup>17,18</sup> 原薬形態最適化、特に、塩結晶化・共結晶化は原薬形態を決定する段階で行える改善手法である。<sup>19</sup> 製剤的手法には、固体分散体<sup>20,21</sup> やナノ粒子化<sup>22,23</sup>、シクロデキス

トリンなどの可溶化剤<sup>24,25</sup>を用いた製剤化などが挙げられる。

これらの中で最も一般的に用いられている手法は、塩結晶化である。塩結晶は化合物とカウンターイオンがイオン結合を形成しているため、水中に加えると、化合物はイオン状態のまま溶解する。<sup>26</sup> この状態では、化合物の溶解度を超えても溶解が進行する。このような現象を過飽和と言い、水溶性が改善する理由である。溶解が進み、化合物の濃度が過溶解濃度に達すると化合物の核形成が生じ、固体が析出し始める (図 VI)。その後、固 - 液平衡により、濃度は化合物の溶解度まで低下する。水溶性および膜透過性の程度から化合物を4つのクラスに分類する手法として Biopharmaceutics Classification System (BCS) が知られているが、<sup>27</sup> このうちクラス2 (高膜透過性・低水溶性) もしくはクラス4 (低膜透過性・低水溶性) に分類される化合物は、解離性の官能基を有する場合、塩とすることによる溶解性の改善が試みられる。非ステロイド性の抗炎症薬である Piroxicam は BCS クラス2の化合物であり、低水溶性であることが知られている。<sup>28</sup> この化合物は monoethanolamine 塩化することにより、経口吸収性が約2倍向上するという報告がある。<sup>29</sup> しかし、塩結晶化は解離性官能基を持たない化合物には適用できない。難水溶性化合物の多くは解離性官能基を有していないことが多いため、他の手法を考える必要がある。

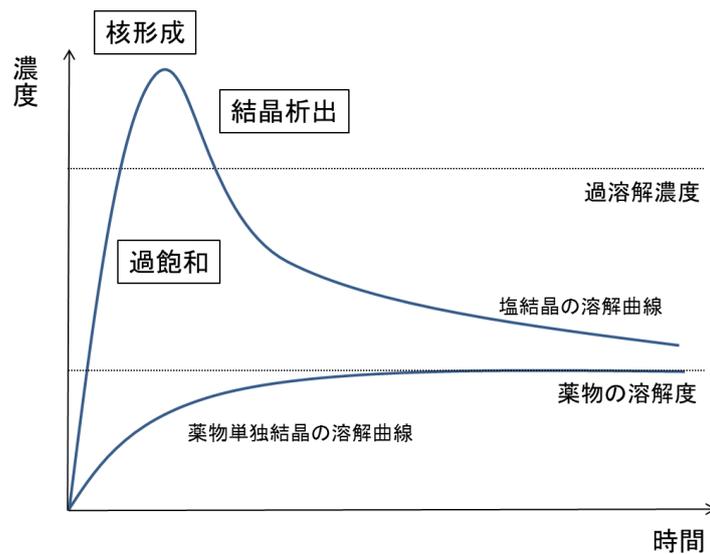


図 VI 塩結晶による過飽和現象の模式図

共結晶化は、近年、難水溶性の改善手法として注目を集めている。その理由として、共結晶化が解離性の官能基を持たない化合物にも適用できること、多くの研究者の検討により調製方法が確立され、調製の実績が増えてきたことおよび分析技術の進歩により、共結晶の評価ができるようになったことが挙げられる。共結晶は、異なる 2 種類以上の分子間において水素結合やファンデルワールス力のような相互作用を形成して結晶化する。そのため、糖のように解離性官能基を持たない化合物との水素結合や、カルボン酸同士の水素結合、芳香環による  $\pi$ - $\pi$  スタッキングなどを利用して結晶化ができ、このような CCF の候補は多く存在する。また、調製方法としては、結晶化手法として一般的に用いられる冷却法、蒸発法、貧溶媒法による晶析<sup>30-32</sup> の他に、スラリー法<sup>33</sup>、混合粉碎法、<sup>34</sup> liquid (solvent)-assisted grinding (LAG) 法や<sup>35</sup> 超音波による共結晶化<sup>36</sup> などが知られている。初期段階の調製法として最も一般的に用いられるのは、LAG 法であり、結晶スクリーニングにも用いられている。また、共結晶調製方法の進歩とともに、分析技術の進歩も共結晶探索を支える鍵技術である。例えば、近年は微小の結晶でも単結晶 X 線構造解析が行えるようになり、結晶構造から共結晶であることがわかるようになった。共結晶化による物性改善の例として、難水溶性の改善<sup>37,38</sup> の他に、吸湿性<sup>39</sup> や物理的安定性の改善<sup>40,41</sup> などが報告されている。また、2014 年には、世界初の共結晶医薬品としてイプラグリフロジン L-プロリン共結晶<sup>42</sup> が上市されている(図 VII)。現在、多くの製薬企業で共結晶化の研究が行われており、今後も共結晶医薬品は増加していくことが予想される。

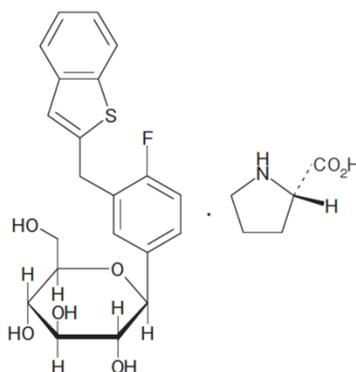


図 VII イプラグリフロジン L-プロリン

#### 4. 共結晶の問題点

しかし、共結晶化には課題もある。それは、相手分子となる CCF の候補が多いことである。CCF の候補には、塩結晶化に用いられる酸や塩基のほかに、糖やアミノ酸なども含まれる。Handbook of Pharmaceutical salts<sup>43</sup> や FDA の Generally Recognized as Safe<sup>44</sup>などを参考にとすると、その数は数 100 種類を超えている。このように多くの CCF の候補の中から、適した共結晶を選択するには多大な時間と費用を要する。そこで、この選択を効率的に行うためのスクリーニング方法がいくつも検討されている。例えば、HTS の例として、ラマン分光法を利用した手法<sup>45</sup> や示差走査熱量測定法を用いた方法<sup>46,47</sup>などが報告されている。また、化合物の入った 1 つのバイアルに複数の CCF を加えて、一度に複数の CCF との共結晶形成について評価する Cocktail grinding 法<sup>48</sup>も知られている。この方法は、HTS 化が難しい LAG 法などの混合粉碎法を効率的に実施する方法として優れた手法である。さらに、いくつかの研究グループによって、*in silico* による共結晶形成予測も実施されている。<sup>49-56</sup> *in silico* による手法は、実験をおこなう時間と費用が必要ないため、効率的な方法として注目されている。しかし、これまで、*in silico* による予測は正確なバリデーションが行われていない。これまでのバリデーションでは共結晶の存在が文献報告されているかどうかにより *in silico* 予測の妥当性を判定しているため、*in silico* 予測により得られた共結晶形成のしやすさの順位が正しいことを判断することができていない。また、共結晶の存在は Cambridge Structural Database (CSD) などのデータベースを参考にしているため、登録漏れや本来は得られるはずであるが、まだ取得されていないような共結晶がある場合は、誤った評価につながる。

#### 5. 本研究の課題

本研究では、*in silico* による共結晶形成予測を評価する方法として、CCF 交換反応を用い

る手法を提案した。CCF 交換反応とは、ある共結晶により熱力学的に安定な共結晶を形成する別の CCF を添加すると、CCF の交換が起こり、安定な共結晶が生じるというものである（図 VIII）。CCF 交換反応は過去にも少数報告されている。Caira らは、sulfonamide 誘導体（SD）と salicylic acid（SA）との共結晶に対し、anthranilic acid（AA）を作用させると、CCF の交換が生じ、SD と AA の共結晶が得られることを報告している。<sup>57</sup> また、森部らは、carbamazepine（Cbz）と malonic acid（MO）の共結晶に対し、Succinic acid（SUC）もしくは glutaric acid（GA）を作用させると、CCF の交換が生じ、Cbz と SUC、Cbz と GA の共結晶がそれぞれ得られることを報告している。<sup>58</sup> CCF 交換反応を *in silico* 予測のバリデーションに用いることのメリットは、熱力学的に安定な共結晶の序列と *in silico* パラメータの順位を直接比較できることである。本手法を用いて安定な共結晶の順位付けを行うことにより、*in silico* 予測による共結晶形成のしやすさの順位が正しいかどうかを判断できるようになる。本研究において、カフェインおよびアセトアミノフェンをモデル化合物とした検証を行った。さらに、検討中に取得したカフェイン-クエン酸共結晶の新規結晶多形について物理化学的な評価を行い、他の結晶多形と異なる結晶形であることを証明した。

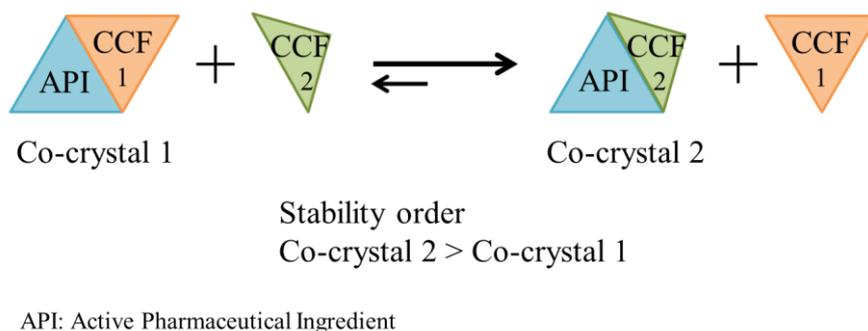


図 VIII 共結晶交換反応の模式図

## 第1章 共結晶子交換反応を用いたカフェイン共結晶の熱力学的安定性序列の決定および *in silico* モデルの評価への応用

### 第1節 背景

共結晶は、薬物の物理化学的性質を改善するための方法として注目されている。<sup>2,59-67</sup> 共結晶を形成する相手となる共結晶子 (CCF) の数は数 100 種類を上回るとされている。そのため、医薬品の研究開発において CCF の効率的なスクリーニング方法の開発が望まれている。共結晶子のスクリーニングの方法として High throughput screening (HTS) 技術が用いられる。<sup>47,48,64,68-70</sup> しかし、HTS を用いた CCF の選択には時間と費用が必要である。そのため、CCF の選択を行うための効率的なプレスクリーニングは医薬品の研究開発にとって価値がある。塩結晶の選択の場合、薬物とカウンターイオンの酸性度の値の差 ( $\Delta pK_a$ ) がカウンターイオンの候補の指標として用いられる。<sup>43</sup> 共結晶の場合も同様に、CCF の選択に用いる *in silico* 予測パラメータが、少数の研究グループから報告されている。<sup>49,52,53,55</sup> 例えば、Musumeci らは、そのようなパラメータとして共結晶と各構成成分の水素結合エネルギーの差 ( $\Delta E$ ) を報告している。<sup>50,51,56</sup> これは共結晶形成確率が上がるほど、 $\Delta E$  の値が大きくなるという仮説に基づいた手法である。しかし、共結晶の熱力学的安定性序列の情報がないことから、 $\Delta E$  の厳密な評価はなされていない。この共結晶の熱力学的安定性序列は CCF 交換反応を用いることで決定できる。CCF 交換反応は、sulfonamide 誘導体<sup>57</sup> や carbamazepine<sup>58</sup> で報告例があるが、交換反応に用いられた CCF の種類は少なく、*in silico* モデルの評価には不十分だと考えられる。

本章における研究の目的は、CCF 交換反応を用いて共結晶の熱力学的安定性序列を決定することである。本研究では、モデル化合物として caffeine (CA) を用い、5 つの CCF との共結晶における熱力学的安定性序列を CCF 交換反応により決定した。さらに、その序列と *in silico* 予測により算出された  $\Delta E$  の比較を行った。CA および用いた各 CCF の構造を Figure 1.1 に示す。

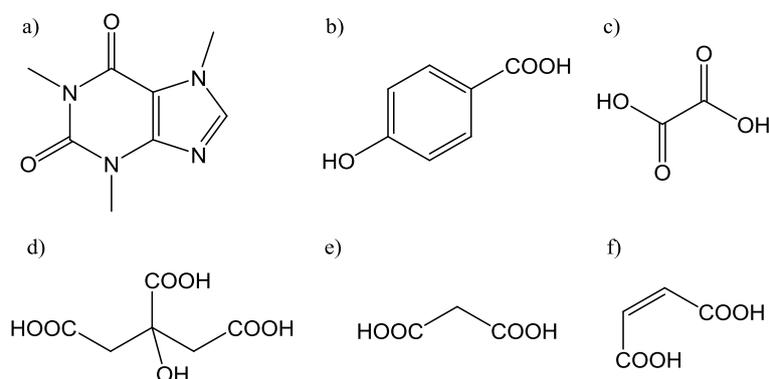


Figure 1.1 Structures of Caffeine and CCFs.

(a) caffeine, (b) *p*-hydroxybenzoic acid, (c) oxalic acid, (d) citric acid, (e) malonic acid and (f) maleic acid.

## 第2節 実験

### 第1項 試薬

*p*-Hydroxybenzoic acid は東京化成工業株式会社より購入した。それ以外の試薬は和光純薬工業株式会社より購入した。

### 第2項 共結晶の調製

CA - *p*-hydroxybenzoic acid 共結晶 (CA-HY)、CA - oxalic acid (OX) 共結晶 (CA-OX)、CA - citric acid (CI) 共結晶 (CA-CI)、CA - malonic acid (MO) 共結晶 (CA-MO) および CA - maleic acid (MA) 共結晶 (CA-MA) は liquid-assisted grinding (LAG) 法により調製した。0.13 mmol の CA (25 mg) および CCF を 1 mL ガラスバイアルに加え、さらに、25  $\mu$ L の chloroform と 2.4 mm 径のタングステンビーズを加えて混合した。BMS-TMS 200 シェーカーを用いて、室温下、1800 rpm の条件で、その混合物を振とうした。CCF の使用量、各共結晶成分のモル比および振と

う時間を Table 1.1 に示す。振とう後、1 時間以上の窒素吹付により chloroform を留去した。

Table 1.1 Preparation conditions for each co-crystal

Co-crystal	Amount of CCF (mg)	Molar ratio of the components (CA:CCF)	Reaction time (h)
CA-HY	35	1:2	44
CA-OX	6	2:1	22
CA-CI	25	1:1	22
CA-MO	7	2:1	6
CA-MA	15	1:1	26

### 第3項 CCF 交換反応

各共結晶、CA に対して等モル量の CCF (1 ~ 7 mg) および 2.4 mm 径のタングステンビーズを 1 mL ガラスバイアルに加えた。その後、バイアルに ethanol を 5  $\mu$ L 加え、2 ~ 24 時間攪拌した (多くの場合、22 時間攪拌した)。Ethanol は 1 時間以上かけて、窒素吹付により留去した。

### 第4項 粉末 X 線回折測定 (PXRD)

すべての回折図は Rigaku SmartLab 回折測定装置の反射モードで測定された。Cu K $\alpha$  線源 (40 kV、30 mA) を用い、 $2\theta$  測定範囲  $5^\circ \sim 40^\circ$ 、スキャン速度  $10^\circ/\text{min}$ 、 $0.02^\circ$  ステップで測定した。すべてのサンプルは無反射試料板を用いて測定した。

### 第3節 結果および考察

#### 第1項 カフェイン共結晶の調製

本研究では、共結晶の  $\Delta E$  が -3 ~ -10 kJ/mol の範囲にある有機酸を CCF として用いている。<sup>56</sup> CA、各 CCF および調製した共結晶の粉末 X 線回折図を Figure 1.2 に示す。本研究で得られた回折図は、CA-CI を除き、既知の共結晶の回折図と同じであることが確認された。<sup>71-73</sup> なお、chloroform 以外の溶媒 (ethanol, ethyl acetate, heptane, methanol および tetrahydrofuran) で共結晶を調製した場合、いくつかの共結晶は反応が進行しない、もしくは反応が完結していなかった。そのため、本共結晶調製には溶媒として chloroform を用いた。CA-MA は 1:1 および 2:1 の共結晶が報告されている。<sup>71,74</sup> しかし、我々は、CA に対して等モル量の MA 存在下において CA-MA (2:1) が CA-MA (1:1) へ変化することを確認しており、この結果は CA-MA (2:1) より CA-MA (1:1) が安定であることを示唆している。そのため、本研究には CA-MA (1:1) を用いた。CA-HY も、1:2 および 2:1 の共結晶の存在が報告されている。<sup>71</sup> 報告によると、CA-HY (1:2) の結晶格子エネルギーは CA-HY (2:1) の結晶格子エネルギーよりも低い。<sup>75</sup> この結果は CA-HY (1:2) が CA-HY (2:1) よりも安定であることを示唆している。そのため、本研究には CA-HY (1:2) を使用した。

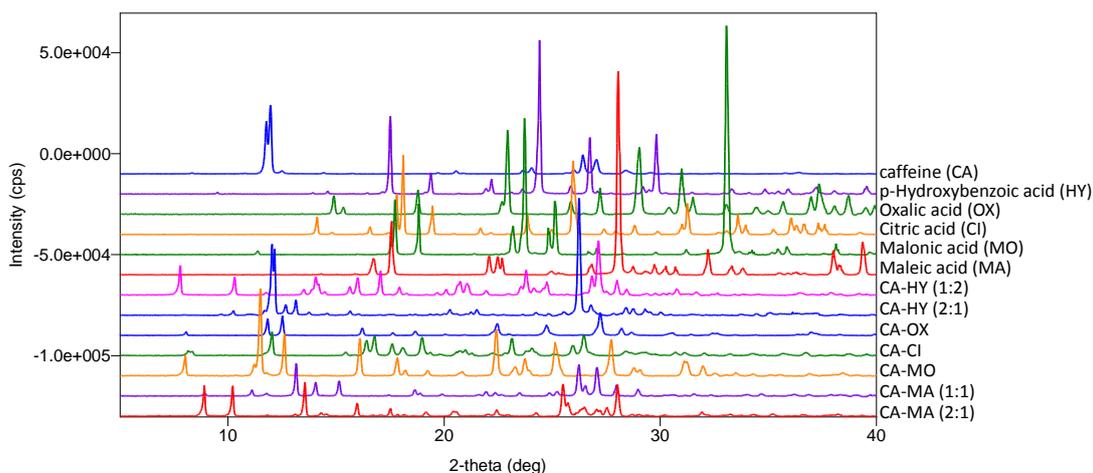


Figure 1.2. PXRD patterns of caffeine, CCFs and co-crystals.

## 第2項 CCF 交換反応を用いたカフェイン共結晶の熱力学的安定性序列の決定

5 つの CA 共結晶の熱力学的安定性序列を決定するために、CCF 交換反応を行った。共結晶調製には溶媒として chloroform を用いたが、CCF 交換反応では混合中に固化が確認されたため、chloroform の代わりに ethanol を用いた。検討段階では、反応時間を 2 時間で行っていたが、反応が完結しない条件もあったため、実験のしやすさを考慮し、22 時間とした。CA-MA に MO 添加した条件以外の CCF 交換反応は、22 時間の反応で、ほぼすべて完結した。

各出発物質および CCF 交換反応後に得られた固体の粉末 X 線回折図をそれぞれ、Figure 1.3 ~ 1.12 に示す。また、CCF 交換反応の結果を Table 1.2 にまとめる。HY を CA-OX もしくは OX を CA-HY (1:2) に添加した場合、各共結晶は部分的に CA-HY (1:2) もしくは CA-OX に変化した (Figure 1.3)。どちらの反応においても、CA-HY (1:2) および CA-OX の混合物が得られた。反応時間を 44 時間にしても、その混合物の回折図に変化はなかった。そのため、この混合物は平衡状態にあると考えられた。HY もしくは OX を CA-CI、CA-MO および CA-MA の各共結晶に加えた場

合、各共結晶は CA-HY もしくは CA-OX に変化した (Figure 1.4 ~ 1.9)。これらの結果から、CA-HY および CA-OX は他の 3 つの共結晶より安定であることが示唆された。各共結晶に CI を添加した場合、CA-MO および CA-MA では交換反応が起こり、CA-CI が生じた。一方、CA-HY および CA-OX においては、交換反応は起きなかった (Figure 1.4、1.7、1.10、1.11)。MO を各共結晶に添加した場合、CA-MA の条件のみ交換反応が生じ、CA-MO が得られた (Figure 1.5、1.8、1.10、1.12)。しかし、22 時間ではこの反応は完結しなかった。MA を各共結晶に加えた場合、交換反応は生じなかった (Figure 1.6、1.9、1.11、1.12)。以上の結果から、5 つの CA 共結晶の熱力学的安定性序列を下記のように決定した。

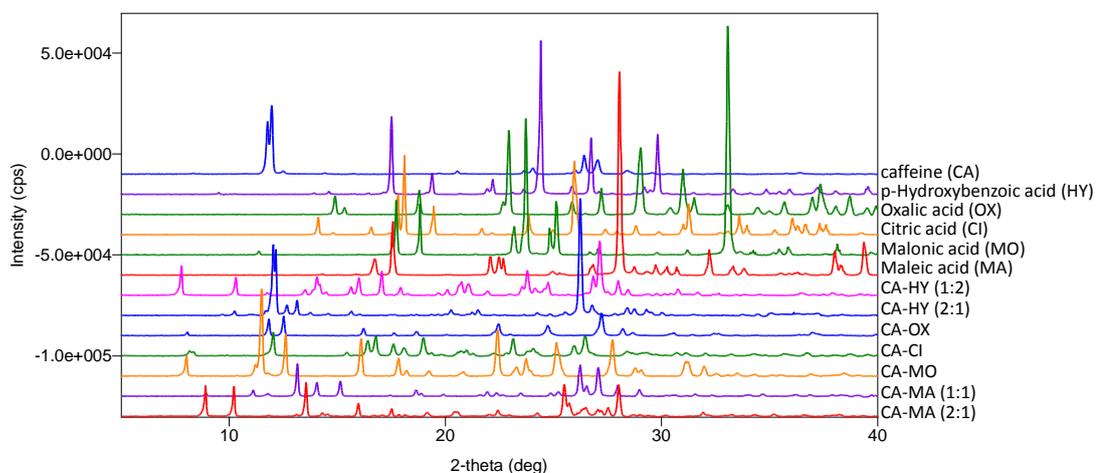


Figure 1.3. PXRD patterns obtained for the CCF exchange reaction of CA-HY (1:2) and CA-OX.

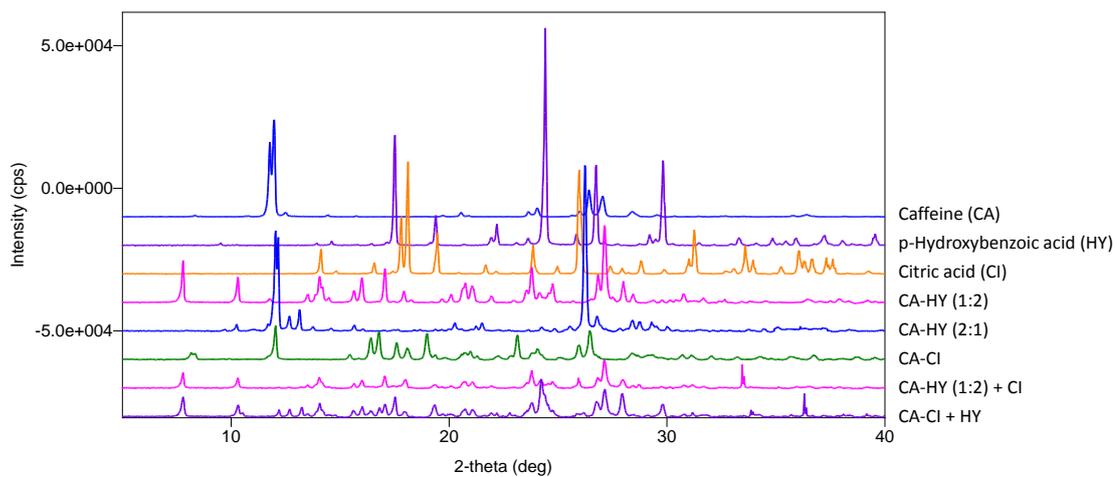


Figure 1.4. PXRD patterns obtained for the CCF exchange reaction of CA-HY (1:2) and CA-CI.

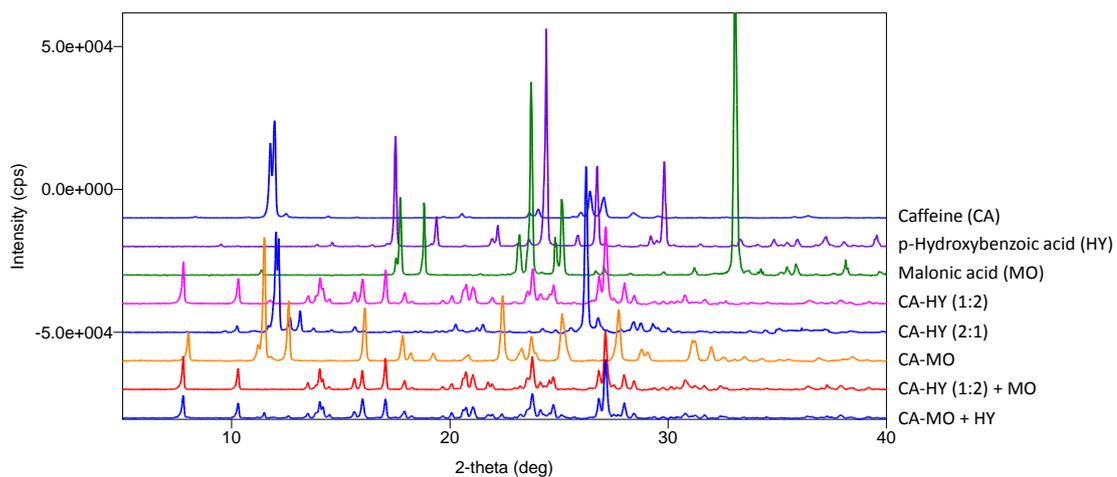


Figure 1.5. PXRD patterns obtained for the CCF exchange reaction of CA-HY (1:2) and CA-MO.

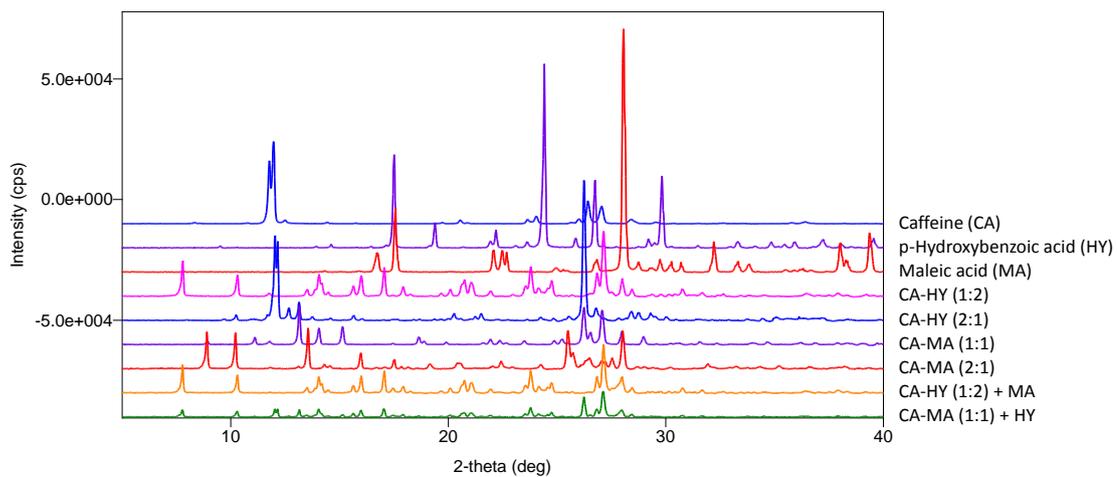


Figure 1.6. PXRD patterns obtained for the CCF exchange reaction of CA-HY (1:2) and CA-MA (1:1).

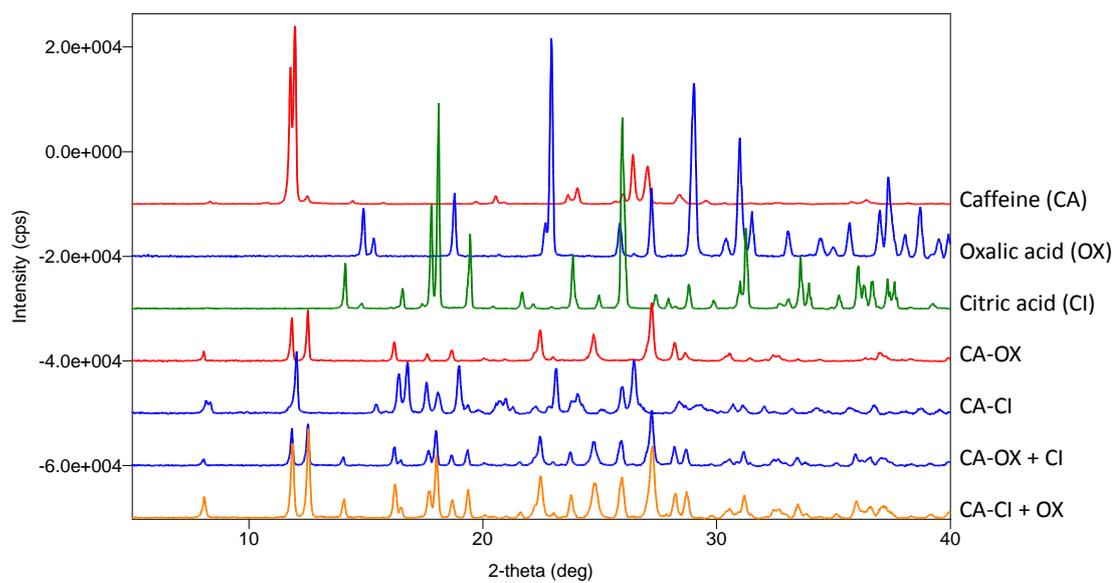


Figure 1.7. PXRD patterns obtained for the CCF exchange reaction of CA-OX and CA-CI.

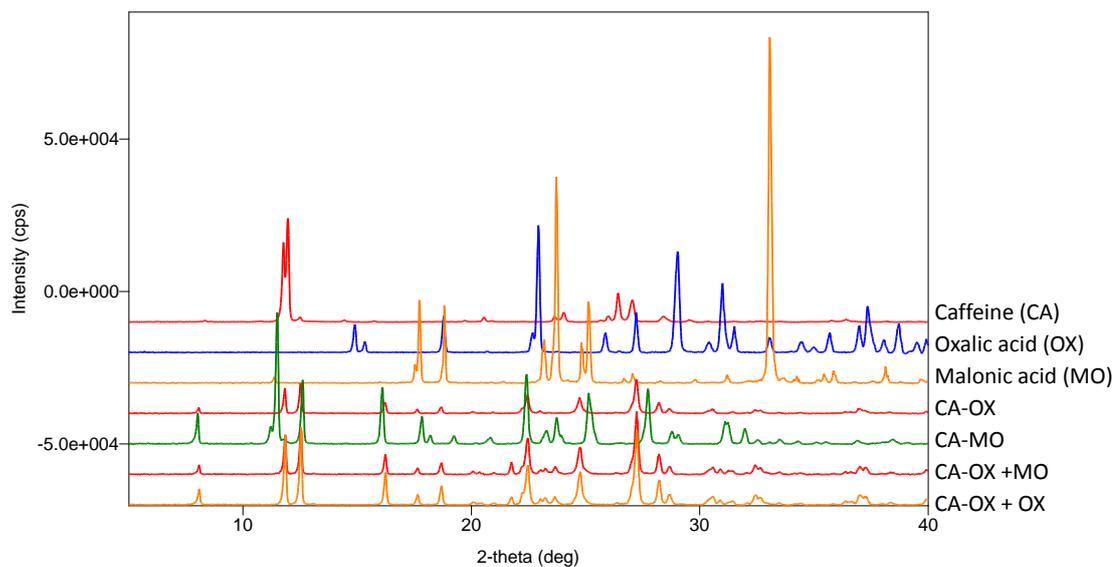


Figure 1.8. PXRD patterns obtained for the CCF exchange reaction of CA-OX and CA-MO.

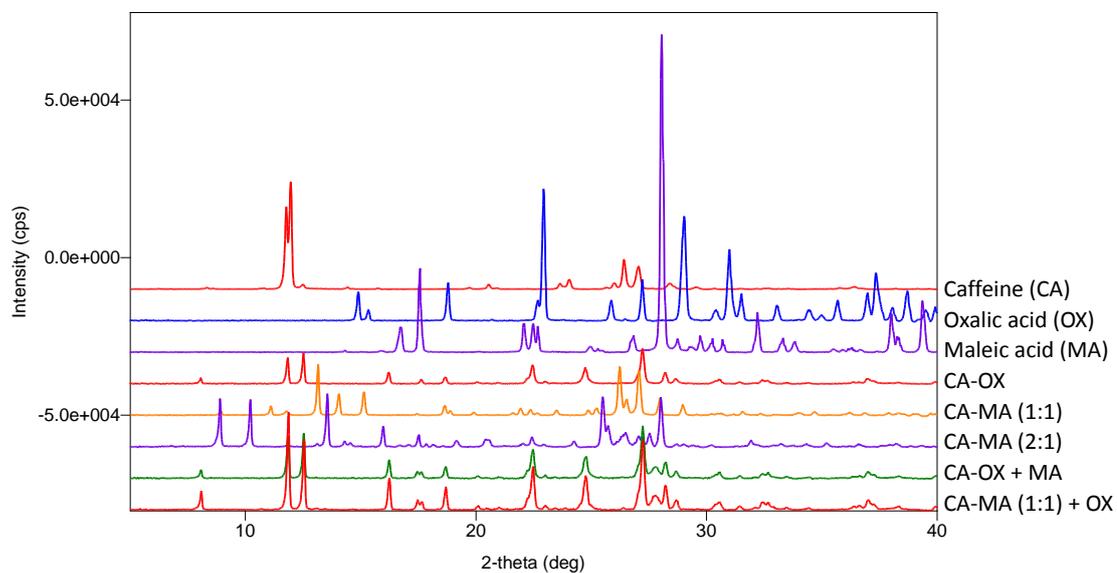


Figure 1.9. PXRD patterns obtained for the CCF exchange reaction of CA-OX and CA-MA (1:1).

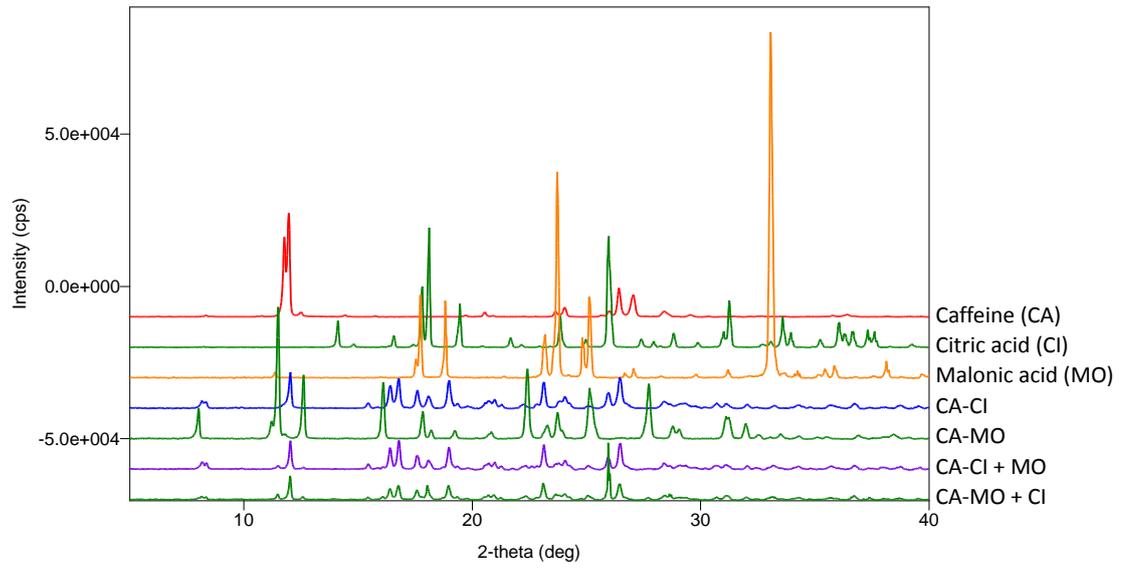


Figure 1.10. PXRD patterns obtained for the CCF exchange reaction of CA-CI and CA-MO.

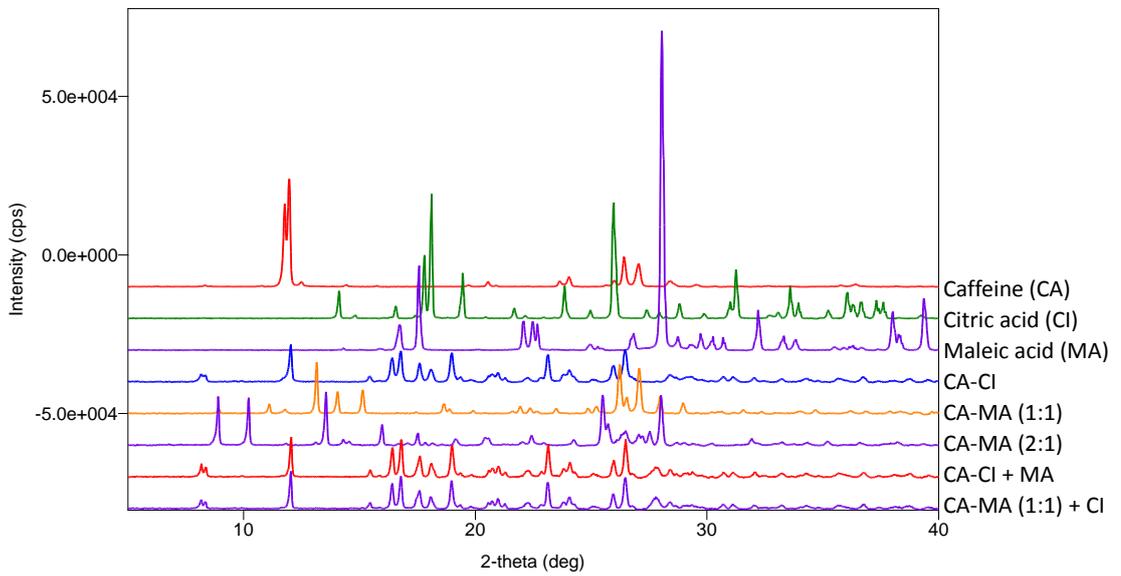


Figure 1.11. PXRD patterns obtained for the CCF exchange reaction of CA-CI and CA-MA (1:1).

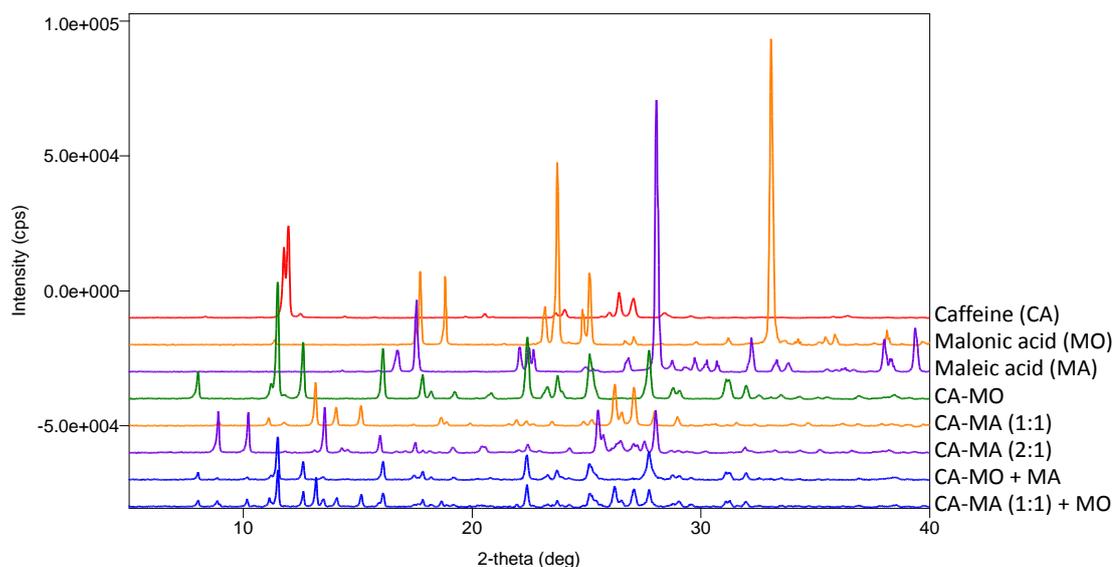


Figure 1.12. PXRD patterns obtained for the CCF exchange reaction of CA-MO and CA-MA (1:1).

Table 1.2 Summary of CCF exchange reactions using five CA co-crystals.

Original Co-crystal	CCF added					Rank of stability order
	<i>p</i> -hydroxy benzoic acid	Oxalic acid	Citric acid	Malonic acid	Maleic acid	
CA-HY	-	CA-OX and CA-HY <sup>a</sup>	N.R. <sup>b</sup>	N.R. <sup>b</sup>	N.R. <sup>b</sup>	1
CA-OX	CA-OX and CA-HY <sup>a</sup>	-	N.R. <sup>b</sup>	N.R. <sup>b</sup>	N.R. <sup>b</sup>	1
CA-CI	CA-HY	CA-OX	-	N.R. <sup>b</sup>	N.R. <sup>b</sup>	3
CA-MO	CA-HY	CA-OX	CA-CI	-	N.R. <sup>b</sup>	4
CA-MA	CA-HY	CA-OX	CA-CI	CA-MO <sup>c</sup>	-	5

<sup>a</sup> Mixture of CA-OX and CA-HY. <sup>b</sup> N.R.: No reaction occurred. <sup>c</sup> The reaction was not completed within 22 h.

### 第3項 *in silico* モデルの評価

これまで、共結晶形成予測のための *in silico* パラメータの評価は、CSD のようなデータベースに共結晶のデータが存在するかに基づいて行われてきた。<sup>49,56</sup> しかし、このような方法を用いた場合、誤った評価を行う可能性がある。共結晶の形成には生成物の熱力学的安定性だけでなく、結晶の核化過程も影響する。そのため一度核化が起きれば、熱力学的に安定な共結晶が得られるものを、安定な結晶ではないと誤った判断をする可能性がある。さらに、実際に実施例や報告がないだけで、共結晶が得られる可能性があるものはデータベースには記載されていない。例えば、CA-adipic acid 共結晶は長い間探索されていたが、2007 年ようやく結晶化が確認された。<sup>76</sup> おそらく、その際は核化が進行し、結晶化に至ったと考えられる。CCF 交換反応により決定した熱力学的安定性序列を用いて、*in silico* による共結晶形成予測パラメータの評価を行うことで、上述したような誤りを避けることができる。

Figure 1.13 に示すように、CA 共結晶の熱力学的安定性の序列は、CA-HY を除いて  $\Delta E$  の順と相関している。CA-HY の共結晶中には  $\pi$ - $\pi$  スタッキングによる相互作用が存在するが、<sup>71</sup>  $\Delta E$  にはスタッキングによる相互作用は見積もられていない。そのため、CA-HY のみ相関しなかったと考えられる。以前、森部らは、carbamazepine 共結晶の熱力学的安定性の序列が、glutaric acid > succinic acid > malonic acid であることを報告している。<sup>58</sup> 一方で、 $\Delta E$  の順は反対であり、malonic acid (-12 kJ/mol) > succinic acid (-11 kJ/mol) > glutaric acid (-7 kJ/mol) となっている。<sup>56</sup> Carbamazepine の各共結晶はスタッキングの様式が異なっている。<sup>77</sup> これらの結果から、共結晶の熱力学的安定性は単に  $\Delta E$  と相関しているわけではないことが示唆される。過去に報告されている 6-31 基底系による半経験的格子エネルギー計算によると、CA-HY は CA-MO よりも安定であるという結果が得られている (Figure 1.14)。<sup>52,75</sup>

これは水素結合以外の相互作用のエネルギーが共結晶の熱力学的安定性に寄与していることを示唆している。より正確な議論をするためには、多くのモデル化合物や CCF を用いて検討を行う必要がある。

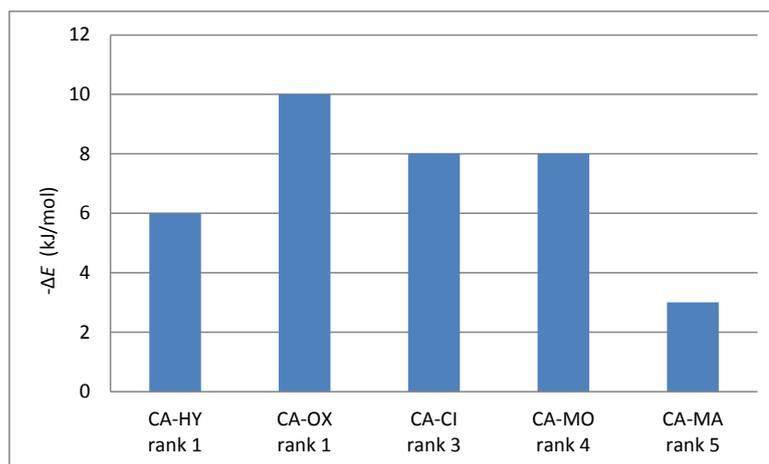


Figure 1.13. Comparison of the difference of hydrogen bond energy ( $\Delta E$ ) of CA co-crystals.

$\Delta E$  means the difference between the hydrogen bond energy of a co-crystal and each component.

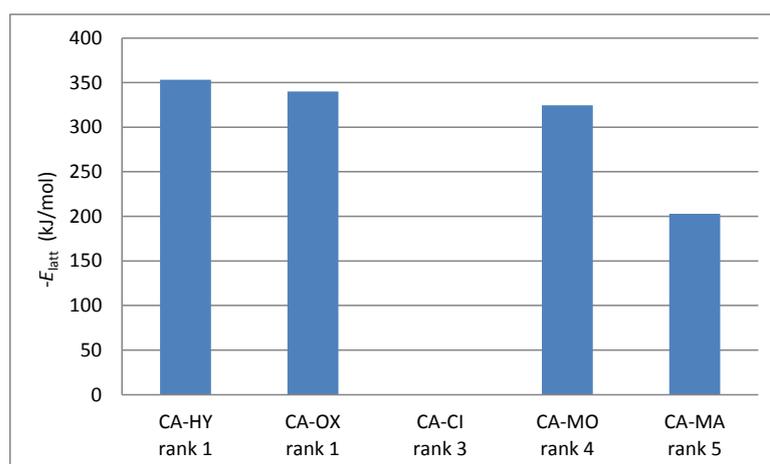


Figure 1.14. Comparison of the lattice energy ( $E_{\text{latt}}$ ) of CA co-crystals.

The value of CA-CI is unknown.

#### 第4節 小括

CCF 交換反応は、共結晶の熱力学的安定性序列を決定するための手法として有効であることが確認された。また、この方法により、*in silico* 予測の評価を行うことにも成功した。しかしながら、この方法には欠点もある。すべての組み合わせで安定性序列の比較を行うことは、実験のために多大な時間と労力を費やすことになる。さらに、CCF の数が増えると、データを解析するためにも時間と労力が必要となる。このような課題は、序列の分類をおこなうための優れたアルゴリズムを開発することにより、解決できると考えている。

## 第2章 共結晶子交換反応を用いたアセトアミノフェン共結晶およびテオフィリン共結晶の熱力学的安定性序列の決定およびその *in silico* および温度パラメータとの相関

### 第1節 背景

共結晶は薬物の物理化学的性質の改善に用いることができる。<sup>2,37,59-67,78</sup> しかし、候補となる共結晶子 (CCF) は数 100 種類あるとされ、特定の薬物と共結晶を形成する最適な組み合わせを見つけることは困難である。そのため、薬物と CCF の化学構造のみに基づく *in silico* による共結晶形成予測の方法の確立は、創薬研究における CCF 選定を効率的にすることができると考えられている。実際、少数の研究者らによって、CCF の選定のための *in silico* 予測パラメータがいくつか報告されている。<sup>49-56</sup> 例えば、Musumeci<sup>56</sup> らや Abramov<sup>49</sup> らの研究チームによって、水素結合エネルギー差 ( $\Delta E$ ) や混合熱 ( $H_{ex}$ ) が共結晶形成の予測に有用であると報告されている。 $\Delta E$  は共結晶と各構成成分の水素結合エネルギー間の差を表している。水素結合エネルギーは、気体分子の静電表面電荷から算出した水素結合ドナーパラメータおよびアクセプターパラメータの積の総和として算出できる。 $H_{ex}$  は共結晶を形成する各構成成分の混合物中の各成分のエンタルピーと各構成成分単独のエンタルピーの差である。混合熱は、量子力学計算により得られる分子の構造や表面電荷密度から分子間の相互作用エネルギーを求め、その値を基に化学ポテンシャルを計算し、その化学ポテンシャルを用いて算出される。一般的に、これらのパラメータは大きくなるほど、共結晶が形成される可能性が高いとされている。第 1 章で、CCF 交換反応を用いて決定した共結晶の熱力学的安定性序列は、このようなパラメータを評価する方法として利用できていることがわかっている。実際、5 つの *caffeine* 共結晶の熱力学的安定性序列は、 $\Delta E$  の序列と良い相関を示した。しかし、 $\Delta E$  を予測パラメータとして使用できると判断するためには、検証したモデル化合物数が不十分である。本研究では、*in silico* 予測の信頼性を向上させるため、

acetaminophen (AC) をモデル化合物として検討を行った。AC は、一つのヒドロキシル基およびアミド基を有する単純な化学構造をしている (Figure 2.1)。AC は様々な CCF と共結晶を形成することが知られており、 $\Delta E$  の評価を行うのに適していると考えられる。<sup>41,79-82</sup> 本研究では、oxalic acid (OX)、maleic acid (MA) および theophylline (TH) の AC 共結晶における熱力学的安定性序列を、CCF 交換反応を用いて決定した (Figure 2.1)。また、その安定性序列を *in silico* および温度パラメータの序列と比較した。

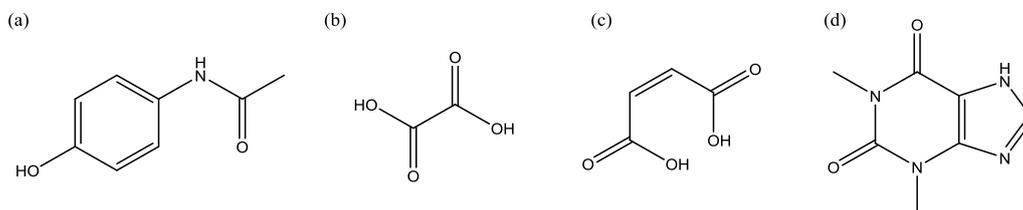


Figure 2.1 Structures of acetaminophen and CCFs.

(a) acetaminophen (AC), (b) oxalic acid (OX), (c) maleic acid (MA) and (d) theophylline (TH).

## 第2節 実験

### 第1項 試薬

AC および TH は東京化成工業株式会社より購入した。OX および MA は和光純薬工業株式会社より購入した。

### 第2項 共結晶の調製

すべての共結晶は ethanol を用いた liquid-assisted grinding (LAG) 法により調製した。0.33 mmol の AC (50 mg) および各 CCF、2.4 mm 径のタングステンビーズを 1 mL ガラスバイアルに加え、5  $\mu$ L の ethanol を添加して混合した。この混合物

を BMS-TMS 200 シェーカーを用いて、室温下、1800 rpm、1 ～ 24 時間振とうさせた。その後、ethanol はドラフト中で自然乾燥させて留去し、共結晶を得た。共結晶調製の詳しい条件は Table 2.1 に示した。

Table 2.1 Conditions for the preparation of the different co-crystals

Co-crystal	Amount of CCF (mg)	Molar ratio of the components	Reaction time (h)
AC-OX	30	1:1	1
AC-MA	38	1:1	2
AC-TH	59	1:1	24
OX-TH	30 (OX), 119 (TH)	1:2	2
MA-TH	38 (MA), 59 (TH)	1:1	2

### 第3項 共結晶子交換反応

AC に対して等モル量の CCF および各共結晶を 1 mL ガラスバイアルに加え、2.4 mm 径のタングステンビーズおよび 15  $\mu$ L (OX および MA の条件を除く) の ethanol を加えた。その後、BMS-TMS 200 シェーカーを用いて、室温下、1800 rpm、22 時間振とうした。MA および OX を、それぞれ AC-OX 共結晶 (AC-OX) および AC-MA 共結晶 (AC-MA) に加えた条件においては、ethanol の量を 15  $\mu$ L から 2  $\mu$ L へ変更している。これは、OX および MA の溶解度が高く、溶解してしまうためである。その後、ethanol はドラフトにて自然乾燥し、留去した。

### 第4項 粉末 X 線回折測定

すべての粉末 X 線回折図は、Bruker D8 Discover 回折測定装置の反射モードを用いて測定された。試料はガラス試料板を用いて測定した。Cu K $\alpha$  線源 (40 kV、40

mA) を用い、 $3.8^{\circ} \sim 26.3^{\circ}$  の  $2\theta$  測定範囲を  $0.02^{\circ}$  ステップ、3 分間で測定した。

#### 第5項 示差走査熱量測定

測定は TA DSC Q2000 を用いて行われた。試料はアルミニウムパンに入れ、アルミニウム製の蓋でシールし、窒素気流下、 $5^{\circ}\text{C}/\text{min}$  で  $40^{\circ}\text{C} \sim 200^{\circ}\text{C}$  もしくは  $300^{\circ}\text{C}$  の範囲で加熱した。

### 第3節 結果および考察

#### 第1項 CCF 交換反応による各共結晶の熱力学的安定性序列の決定

3 つの AC 共結晶は ethanol を用いた LAG 法により調製した。AC-MA は黄色の粉末、それ以外の共結晶は白色の粉末であった。各共結晶とその構成成分の粉末 X 線回折図を Figure 2.2 に示した。AC-MA 以外の共結晶は既に報告されている回折図と同じ回折図を示した。AC-MA の粉末 X 線回折図は本研究で初めて報告された。

<sup>41</sup> CCF 交換反応は ethanol を用いた LAG 法で行った。事前検討において、CCF 交換反応は 22 時間で反応が完結することが確認されていた。そのため、本研究における反応時間はいずれも 22 時間以上で実施した。各交換反応の結果は Figure 2.3 ~ 2.5 に示し、Table 2.2 にまとめた。AC-MA に TH を加えた場合、AC-TH 共結晶 (AC-TH) が得られた。一方、AC-TH に MA を加えた場合、AC-MA は生じなかった。これらの結果は AC-TH が AC-MA より安定であることを示唆している (Figure 2.3)。興味深いことに、いずれの反応でも副生成物として MA-TH 共結晶 (MA-TH) が生じていた (詳細は後述)。MA を AC-OX および OX を AC-MA に加えた場合、いずれの場合も AC-OX と AC-MA の混合物が得られた (Figure 2.4)。これらの結

果から、2つの共結晶の熱力学的安定性は同程度であることが示唆された。AC-OXにTHを加えた場合、AC-THではなく、OX-TH共結晶(OX-TH)が生じた(Figure 2.5)。同様に、AC-THにOXを加えた場合もOX-THが生じた(Figure 2.5)。これらの結果は、共結晶を、より安定な共結晶を形成する他の分子と共に扱ると、元の薬物の共結晶からCCFが外れ、薬物単体となる可能性を示している。

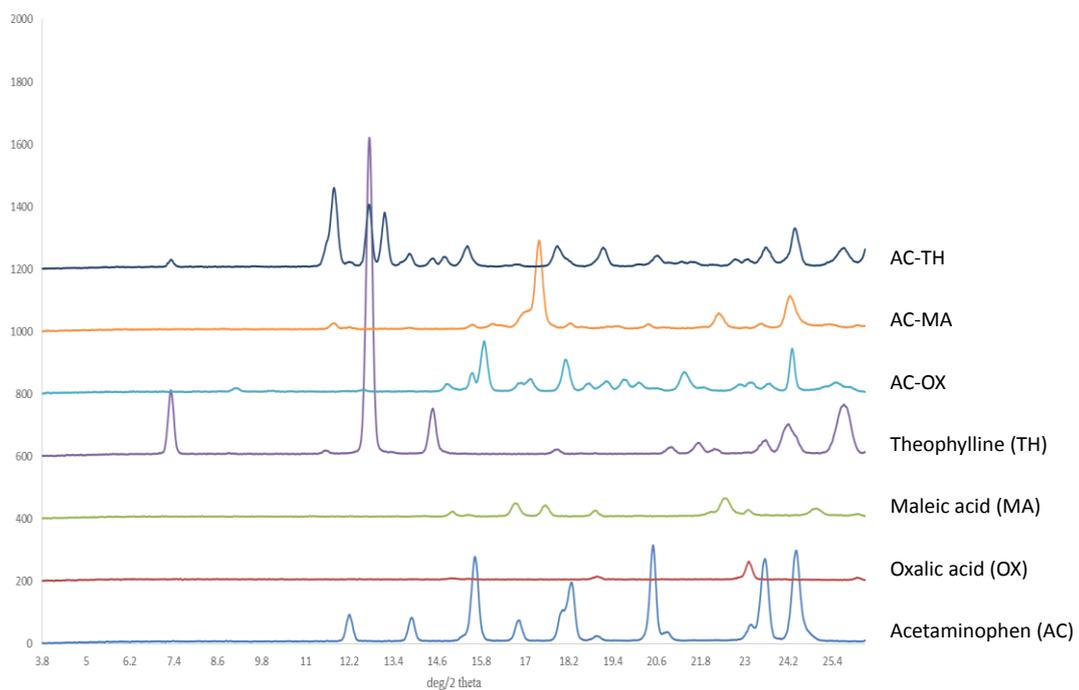


Figure 2.2. PXRD patterns of acetaminophen, CCFs and co-crystals.

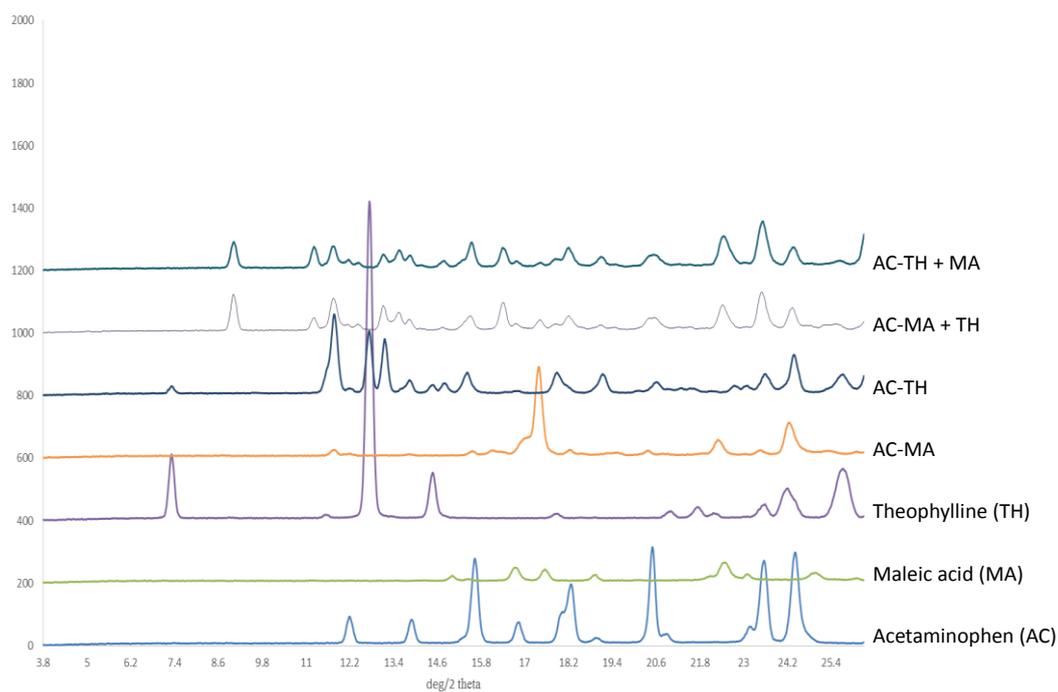


Figure 2.3. PXRD patterns obtained for the CCF exchange reactions of AC-MA and AC-TH.

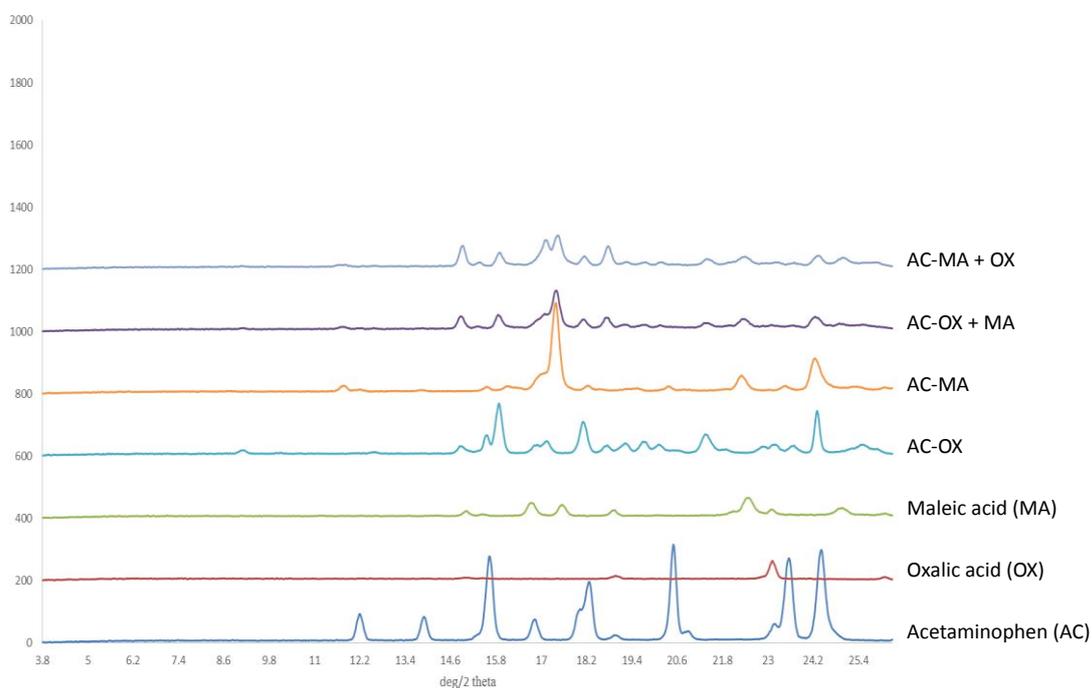


Figure 2.4. PXRD patterns obtained for the CCF exchange reaction of AC-OX and AC-MA.

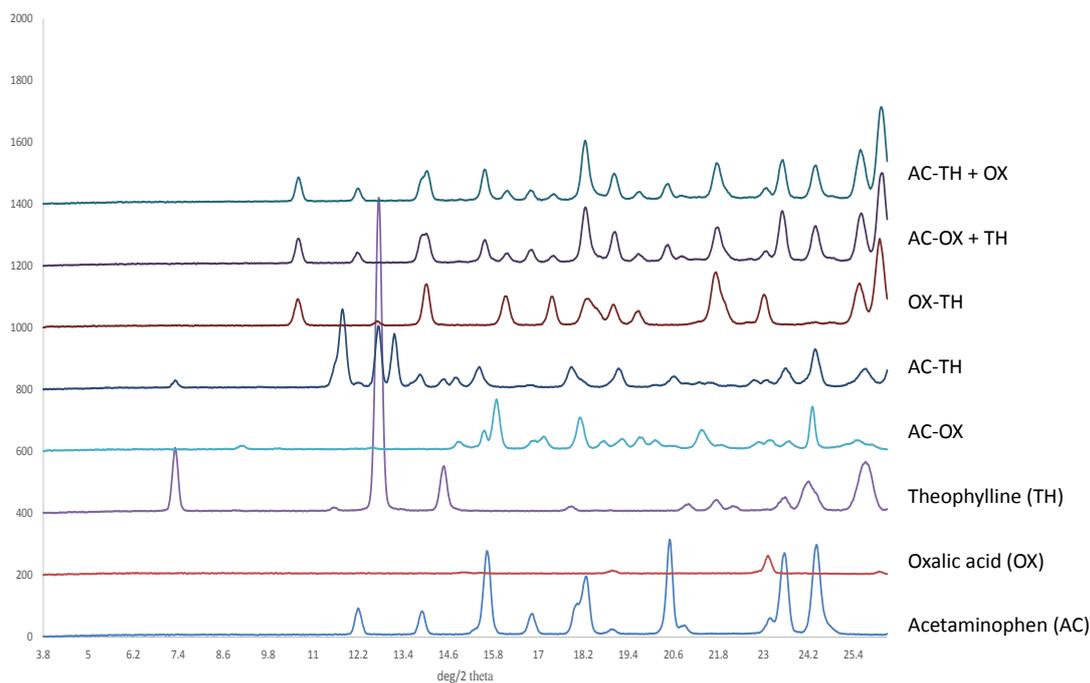


Figure 2.5. PXRD patterns obtained for the CCF exchange reactions of AC-OX and AC-TH.

Table 2.2 Summary of the CCF exchange reactions using three AC co-crystals

Original co-crystal	CCF added			Rank of stability order
	Oxalic acid	Maleic acid	theophylline	
AC-OX	-	AC-OX and AC-MA	OX-TH	2
AC-MA	AC-OX and AC-MA	-	AC-TH and MA-TH	2
AC-TH	OX-TH	AC-TH and MA-TH	-	1

CCF 交換反応において、AC 共結晶以外の MA-TH や OX-TH の存在が確認されたため、OX、MA および TH を用いた各組み合わせで共結晶を調製し、それらの共結晶と AC 共結晶との関係を確認した。MA-TH および OX-TH は ethanol を用いた LAG 法により取得することが可能であった。しかし、OX-MA 共結晶は取得することができなかった。OX-TH および MA-TH の回折図 (Figure 2.6) は既知の報

告にある回折図と同じであることを確認した。<sup>83</sup> OX-TH および MA-TH を用いた CCF 交換反応は LAG 法により行った。結果を Figure 2.7 ~ 2.9 に示し、Table 2.3 にまとめた。MA-TH に OX を加えた場合、OX-TH が生じた (Figure 2.7)。AC もしくは MA を OX-TH に加えた場合、CCF の交換は生じなかった (Figure 2.7 および 2.8)。しかし、MA-TH に AC を加えた場合、AC-TH および MA-TH の混合物が得られた (Figure 2.9)。以上をまとめると、AC 共結晶も含めた 5 つの共結晶の熱力学的安定性序列は下記のとおりであった。

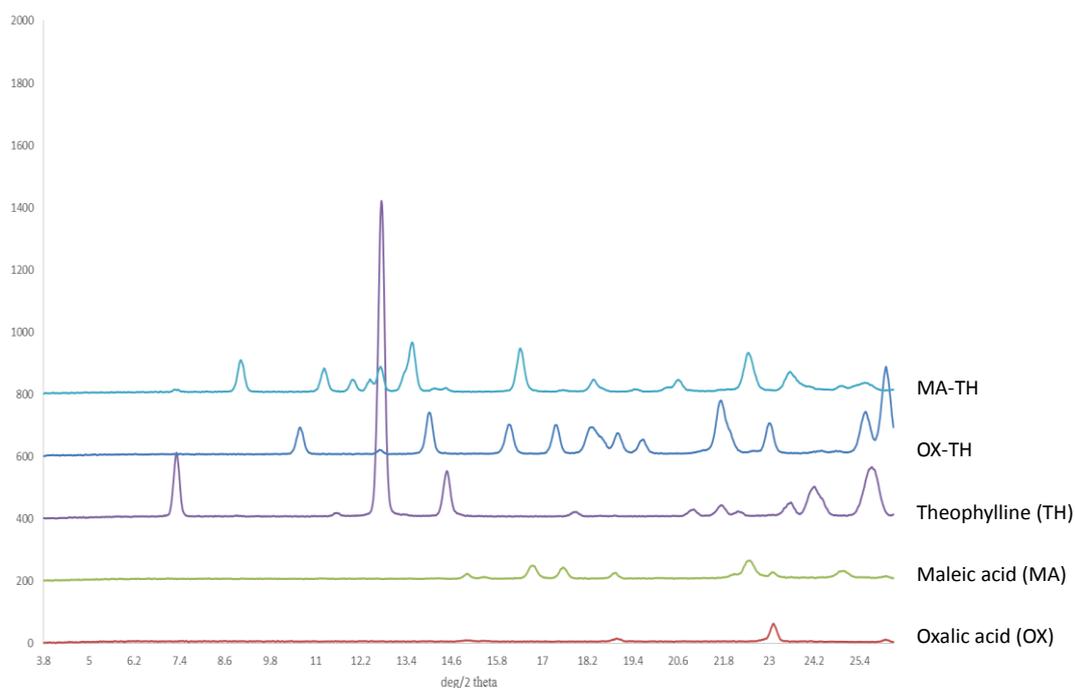


Figure 2.6. PXRD patterns of OX-TH, MA-TH and their components.

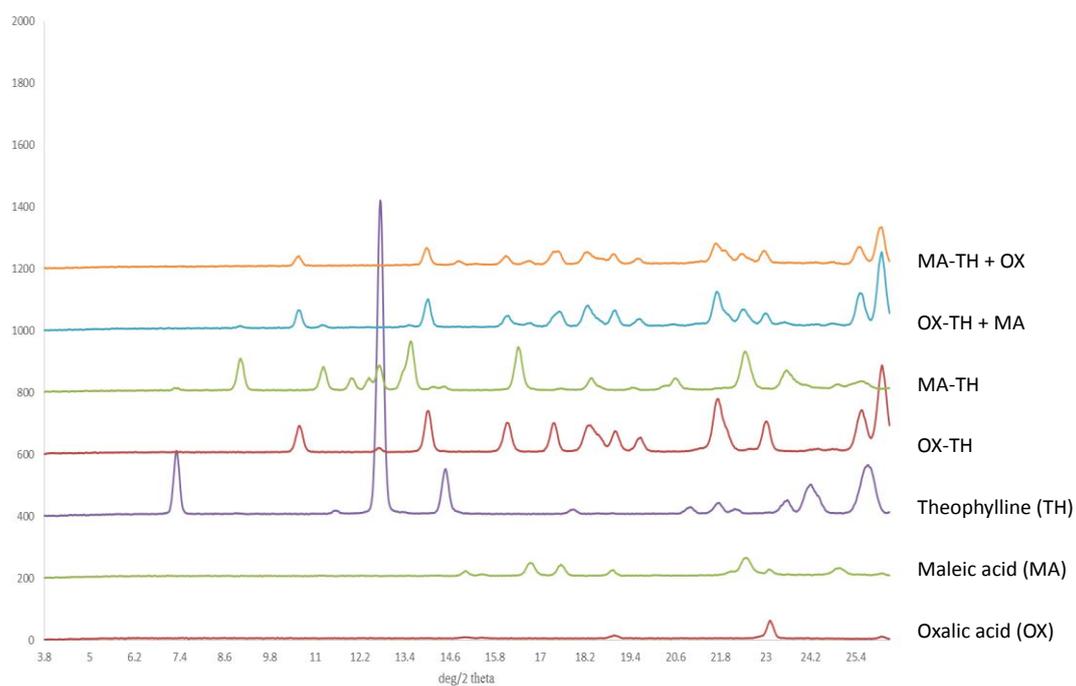


Figure 2.7. PXRD patterns obtained for the CCF exchange reactions of OX-TH and MA-TH.

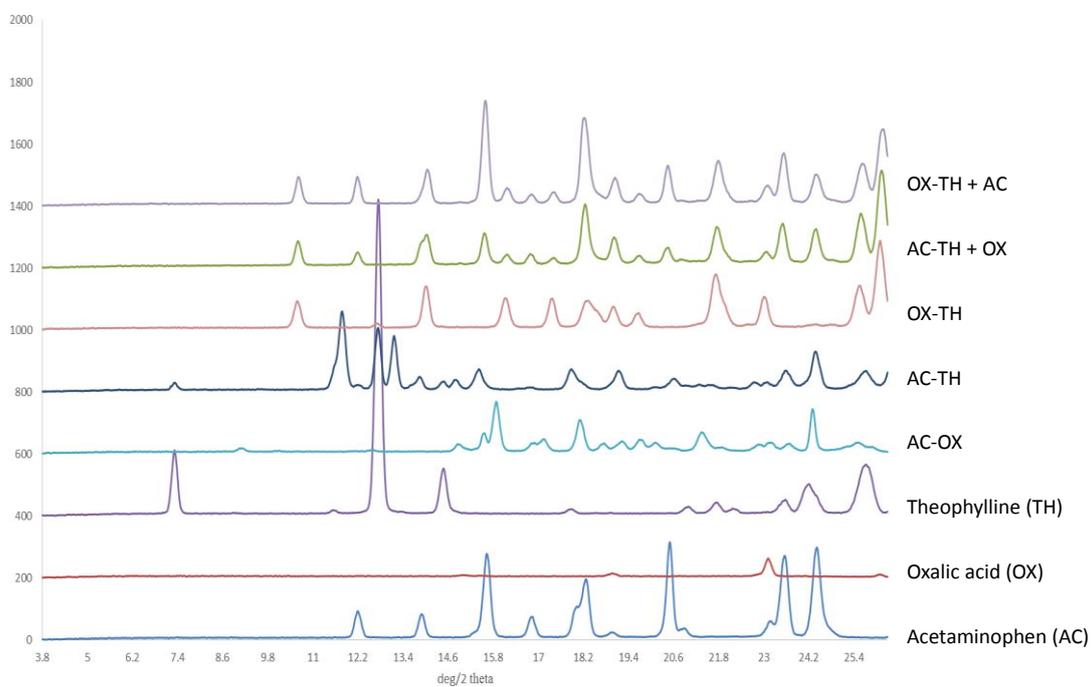


Figure 2.8. PXRD patterns obtained for the CCF exchange reactions of AC-TH and OX-TH.

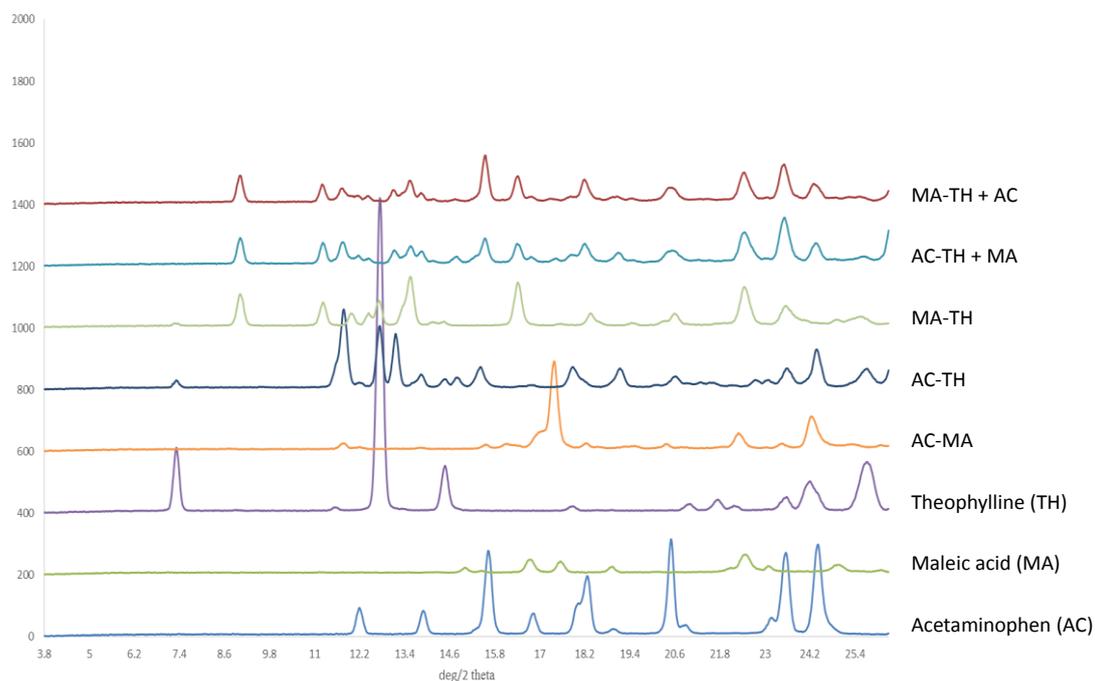


Figure 2.9. PXRD patterns obtained for the CCF exchange reactions of AC-TH and MA-TH.

Table 2.3 Summary of the CCF exchange reactions using three TH co-crystals

Original co-crystal	CCF added			Rank of stability order
	Acetaminophen	Oxalic acid	Maleic acid	
AC-TH	-	OX-TH	AC-TH and MA-TH	2
OX-TH	N.R.	-	N.R.	1
MA-TH	AC-TH and MA-TH	OX-TH	-	2

## 第2項 *in silico* パラメータの評価

いくつかの AC 共結晶について  $\Delta E$  や  $H_{\text{ex}}$  の値は既に報告されている。<sup>49,51</sup> 今回用いた共結晶の  $\Delta E$  の値を Figure 2.10 に示す。 $\Delta E$  の値の順は CCF 交換反応により得られた熱力学的安定性序列と類似していた。一方、 $H_{\text{ex}}$  の値の順は安定性序列との相関は認められなかった (Figure 2.11)。これらの結果は、AC 共結晶においては、 $H_{\text{ex}}$  よりも  $\Delta E$  を用いた方が、共結晶形成の可能性をより精度よく予測できること

を示唆している。 $\Delta E$  は共結晶の各構成成分間の水素結合の強さに基づいて算出される。<sup>56</sup> 一方、 $H_{ex}$  は水素結合以外の他の相互作用も加味して計算される混和性に基づいている。<sup>49</sup> 本研究に用いた AC や CCF は単純な化学構造であるため、AC 共結晶の形成は主に水素結合の影響を受けていると考えられる。そのため、本研究で調製された AC 共結晶の安定性序列と  $\Delta E$  の値の序列は関連したと考えられる。第 1 章の結果から、薬物と CCF 間に  $\pi - \pi$  スタッキングによる相互作用がある場合、 $\Delta E$  の値の序列と安定性の序列は関連しなかった。これらを踏まえると、水素結合が共結晶形成に強い影響を及ぼしている系において共結晶形成予測を行う際は、 $\Delta E$  を用いることが適していると考えられる。

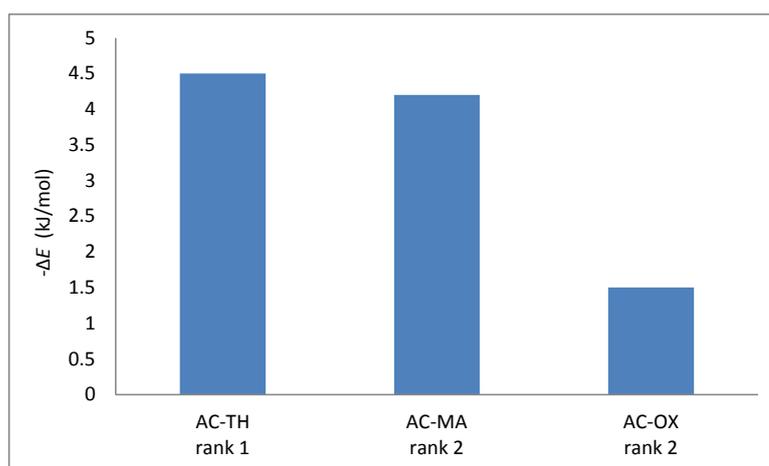


Figure 2.10. Comparison of the difference of hydrogen bond energy ( $\Delta E$ ) of AC co-crystals.

$\Delta E$  means the difference between the hydrogen bond energy of a co-crystal and each component.

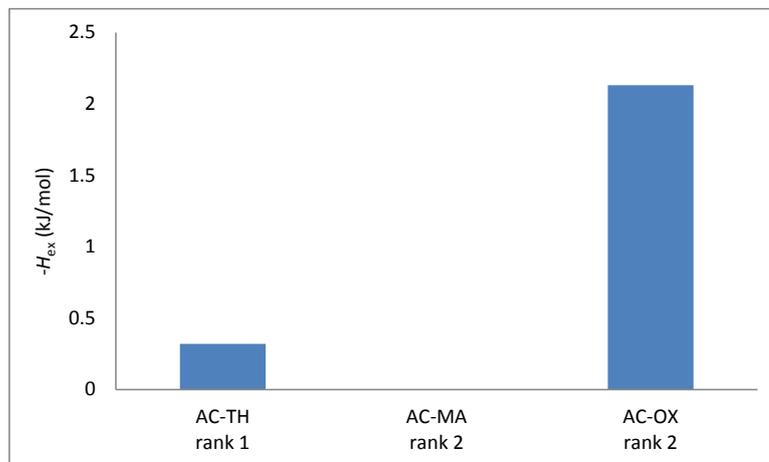


Figure 2.11. Comparison of the excess enthalpy ( $H_{ex}$ ) of AC co-crystals.

The value of AC-MA is unknown.

### 第3項 熱分析結果に基づく考察

示差走査熱量測定 (DSC) の結果を Figure 2.12 および 2.13 に示す。DSC の結果から、5 つの共結晶の熱力学的安定性序列と融点または分解温度の順は類似していることが分かった。OX-TH は 230 °C で分解し、TH が 270 °C で融解することが既に知られている。<sup>84</sup> DSC - 粉末 X 線回折同時測定の結果から、AC-TH や MA-TH も同様に、それぞれ 167 °C および 137 °C で分解することが分かった (data not shown)。熱分析の結果から、融点または分解温度の序列は以下の通りであった。



この序列は、CCF 交換反応を用いて決定した熱力学的安定性序列とほぼ一致した。

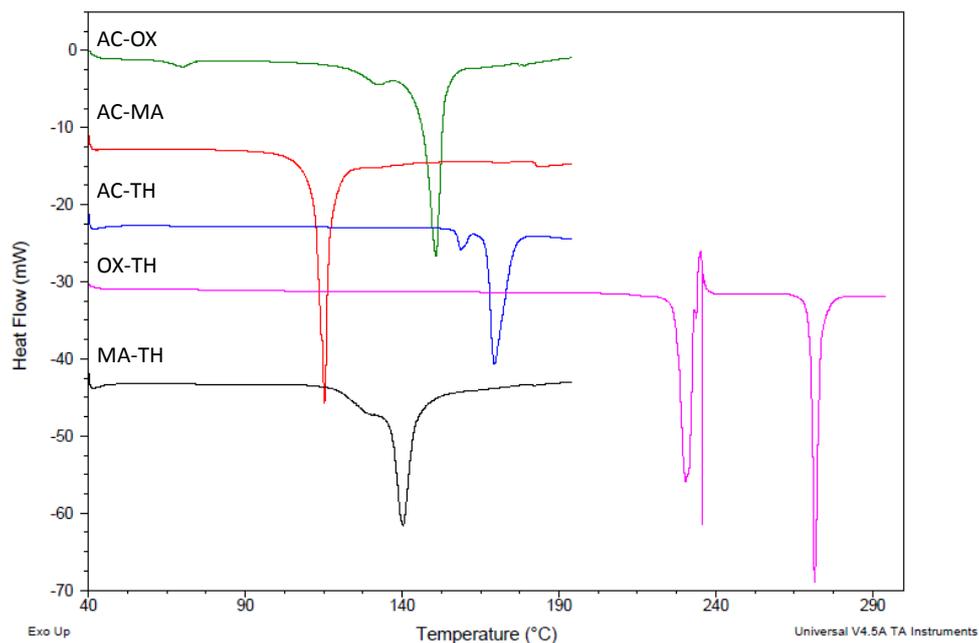


Figure 2.12. DSC thermograms of AC and TH co-crystals.

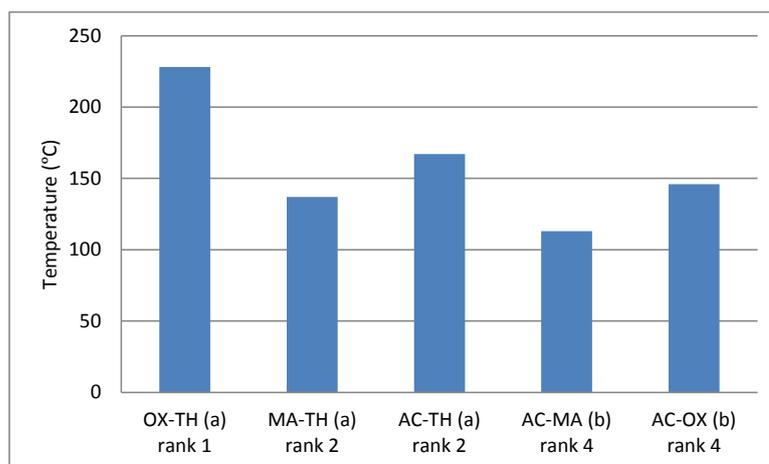


Figure 2.13. Thermal parameters of AC and TH co-crystals. (a) decomposition temperature and (b) melting point.

#### 第4項 結晶構造に基づく考察

OX-TH の分解温度は、他の共結晶に比べ 100 °C 程高い。本項では、OX-TH および他の共結晶の結晶構造に基づいて、OX-TH の熱力学安定性の高さについて考

察する。OX-THの結晶構造(CSD code: XEJWUF)はKarkiらによって既に報告されている。<sup>83</sup> この結晶構造は、2つのTHのカルボニル基とアミノ基によって平面構造が構築されている(Figure 2.14a)。この平面は、THの窒素原子とOXのカルボニル基の水素結合により連なり、帯状の構造をつくっている。さらに、THのアミノ基とOXのカルボニル基による弱い水素結合も形成されていることが示唆される(Figure 2.14b)。この水素原子と酸素原子の距離は2.8 Åであり、弱い水素結合を形成するには十分な距離である。これらのことから、この帯状構造は立体的な水素結合のネットワークを構築していると考えられる(Figure 2.14c)。しかし、AC-OXやAC-THには3次元的な水素結合ネットワークは確認できない(Figure 2.14d-f)。<sup>41,83</sup> AC-MAの結晶構造はまだ報告されていないが、OX-THの安定性には、この水素結合によるネットワークが寄与していると考えられる。

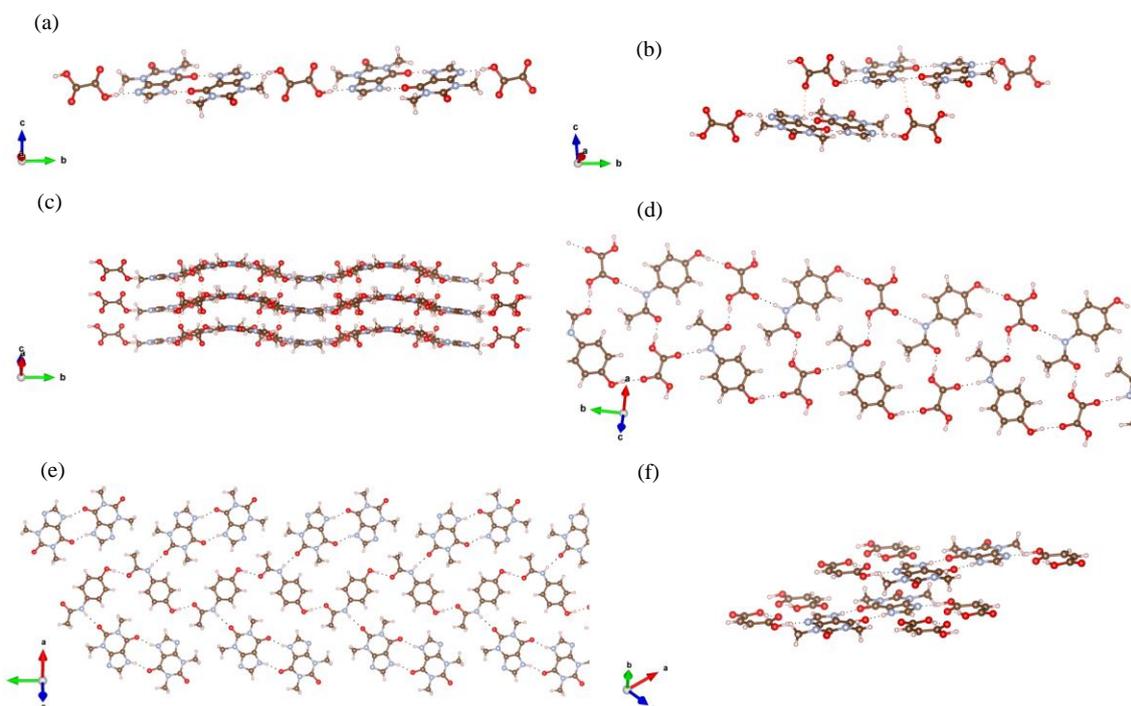


Figure 2.14. Packing diagrams of the co-crystals. (a) The band structure formed by OX and TH in OX-TH, (b) hydrogen bond between an amino group of TH and a carbonyl group of OX in OX-TH (CSD code: XEJWUF), (c) 3D hydrogen-bonding network in OX-TH, (d) 2D hydrogen-bonding network in AC-OX (CSD code: LUJTAM), (e) 2D hydrogen-bonding network in AC-TH (CSD code: KIGLUI01) and (f) 2D hydrogen-bonding network in MA-TH (CSD code: XEJXEQ). These crystal structures were drawn using VESTA.<sup>85</sup>

#### 第4節 小括

本研究では、AC および TH の共結晶を用いて CCF 交換反応を行い、熱力学的安定性序列を決定した。また、その結果から、 $\Delta E$  および  $H_{ex}$  を用いて AC 共結晶の安定性の序列を予測することが可能かという点について評価を行った。その結果、AC 共結晶のように共結晶形成に水素結合が強く影響している場合は、共結晶形成予測に  $\Delta E$  を用いることが適していることが分かった。また、OX-TH は本研究で調製した共結晶の中で最も安定であることが判明した。さらに、AC および TH の各共結晶の安定性の序列は、融点または分解温度の順と良い一致を示した。

### 第3章 カフェイン - クエン酸共結晶の3つの結晶多形における物理化学的性質の評価

#### 第1節 背景

共結晶は多くの製薬企業の研究者から注目を集めている。<sup>59-62,64,67,83,86-92</sup> 共結晶化は、医薬品開発における薬物のバイオアベイラビリティや保存安定性、製造性などの物性を改善することができる。<sup>40,59,83,89-91,93</sup> これまでの報告によると、caffeine (CA) は共結晶の研究のモデル化合物として広く用いられている。CA はカルボン酸やアルコール、アミンなどの多くのゲスト分子と共結晶を形成する。<sup>71,76,94-98</sup> 近年、CA-citric acid (CI) 共結晶 (CA-CI) について広く研究が行われている。CA-CI の I 形結晶は、2007 年に Karki らによって初めて報告された。<sup>73</sup> II 形結晶は Smit および Hagen によって、最近報告されている。<sup>99</sup> しかし、第 1 章で述べた CA-CI の粉末 X 線回折図は、これまで得られている 2 つの共結晶の回折図とは異なっていた。これは新たな結晶多形の存在を示唆している。本章では、この新たな結晶多形を III 形結晶と表記する。また、これまで既知の 2 つの共結晶について詳細な物性評価が行われていなかった。そこで、本研究では III 形結晶の特徴づけおよび 3 つの結晶多形の評価を行った。また、3 つの共結晶間の熱力学的安定性の序列も決定した。

#### 第2節 実験

##### 第1項 試薬

すべての試薬は、和光純薬工業株式会社より購入した。

## 第2項 I形結晶およびIII形結晶の調製

I形結晶およびIII形結晶は liquid-assisted grinding (LAG) 法により調製した。まず、26 mmol の CA および CA に対して等モル量の CI の混合物をサンプルミルのジャーに加えた。その後、10 mL の chloroform および粉碎用ロッドを加え、Hi-speed Vibration Mill TI-100 を用いて1時間振とうした。その後、ドラフト内で chloroform を自然蒸発し、留去した。本調製法で、初めの数ロットはIII形結晶を取得した。しかし、一度I形結晶が得られてからは、III形結晶を取得できなくなった。さらに、その後II形結晶が得られるようになってからは、I形結晶も取得できなくなった。I形結晶およびIII形結晶は、それらが取得できなくなる前に、評価に必要な十分量を取得していた。

## 第3項 II形結晶の調製

II形結晶はスラリー法により調製した。26 mmol の CI を 100 mL ビーカーに加え、10 mL の水を 70 °C ~ 75 °C で攪拌しながら徐々に加えた。CI が溶けた後、26 mmol の CA をビーカーに加えた。その後、懸濁状態で約 20 分攪拌した後、乾燥させてII形結晶を得た。

## 第4項 粉末 X 線回折測定

すべての回折図は Rigaku SmartLab 回折測定装置の反射モードで測定された。Cu K $\alpha$  線源 (40 kV、30 mA) を用い、5° ~ 40° の  $2\theta$  測定範囲、スキャン速度 10°/min で測定した。

#### 第5項 ラマン散乱分光測定

すべての試料のラマンスペクトルは、InGaAs 検出器を搭載した RamanRXN2 1000 system を用いて測定した。スペクトルは 993 nm (200 mW) の波長のレーザーを用いて、200 ~ 2400  $\text{cm}^{-1}$  の範囲で測定した。

#### 第6項 赤外吸収分光測定

すべての試料の赤外吸収スペクトルは、KBr 錠剤法を用いて FT/IR-4100 により測定した。KBr のペレットには 1%の試料を添加した。積算回数は 64 回、測定範囲は 400 ~ 4000  $\text{cm}^{-1}$  で行った。

#### 第7項 熱分析

示差走査熱量測定 (DSC) は TA DSC Q2000 を用いて行った。試料はアルミニウムパンに入れてクリンプし、窒素ガス気流下 (50 mL/min)、40 °C ~ 250 °C の範囲を 10 °C/min の速度で測定した。熱重量分析 (TGA) は TA TGA Q500 を用いて行った。測定は窒素気流下 (40 mL/min)、40 °C ~ 300 °C の測定範囲を 10 °C/min の速度で行った。

#### 第8項 示差走査熱量 - 粉末 X 線回折同時測定 (DSC-XRD)

すべての回折図は Rigaku SmartLab 回折測定装置の反射モードで測定された。XRD の測定は、Cu K $\alpha$  線源 (40 kV、30 mA) を用い、5° ~ 30°の  $2\theta$  測定範囲、スキャン速度 40°/min で行った。DSC は、25 °C ~ 250 °C の範囲を 10 °C/min の速

度で測定した。

#### 第9項 動的水蒸気吸脱着測定

水蒸気吸脱着測定は Dynamic Vapor Sorption Advantage を用いて 25 °C で行った。相対湿度は 0% ~ 98% まで 5% ずつ上昇させた。平衡条件は、各ステップにおいて 1 分間に 0.004% の重量変化とした。各ステップの最短および最長時間は、それぞれ 10 分および 2000 分とした。

#### 第10項 スラリー競合法による熱力学的安定性序列の決定

I 形結晶および II 形結晶をそれぞれ 5 mg ずつ 1 mL ガラスバイアルに加え、50  $\mu$ L の chloroform を添加した。その後、MyBL-100CS シェーカーを用いて、室温下、1800 rpm で 22 時間振とうした。振とう後、1 時間以上の窒素吹付により、chloroform を留去した。得られた固体は粉末 X 線回折測定により評価した。他の 2 つの組み合わせについても同様な方法で実施した。

### 第3節 結果

#### 第1項 粉末 X 線回折図

出発物質および各 CA-CI を粉末 X 線回折測定により評価した。得られた結晶の回折図は、CA、CI およびそれらの物理的混合物の回折図とは異なっていた (Figure 3.1)。I 形結晶の回折図は Karki らの報告にあるものと同一であった。<sup>73</sup> II 形結晶の回折図は Smit および Hagen の報告にあるものと同一であった。<sup>99</sup> III 形結晶は  $2\theta =$

8°、17°、19°、21°、23°に特徴的な回折ピークを示した。

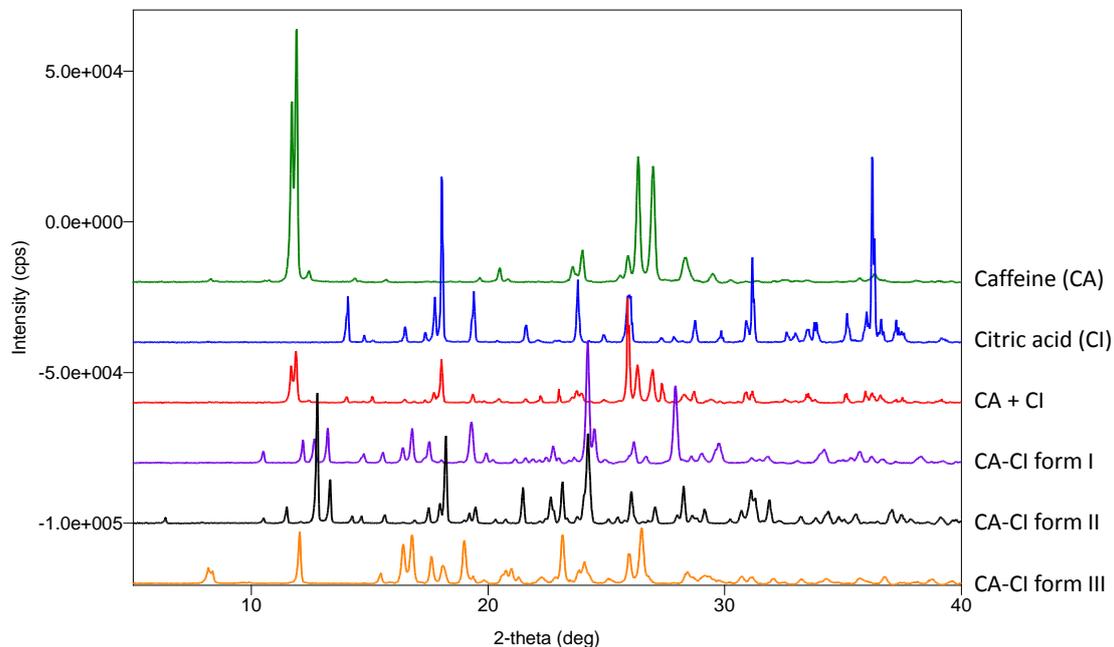


Figure 3.1. PXRD patterns of caffeine, citric acid, and co-crystals.

## 第2項 ラマンスペクトル

出発物質およびそれらの物理的混合物、各 CA-CI のラマンスペクトルを Figure 3.2 に示す。CA は  $1658\text{ cm}^{-1}$  および  $1699\text{ cm}^{-1}$  にカルボニル基に由来する特徴的なピークを示した。CI は  $1693\text{ cm}^{-1}$  および  $1738\text{ cm}^{-1}$  にカルボキシル基に由来する特徴的なピークを示した。各 CA-CI については、CA のカルボニル基に由来するピークが消失していた。また、CI のカルボキシル基に由来するピーク ( $1738\text{ cm}^{-1}$ ) のシフトが確認された。

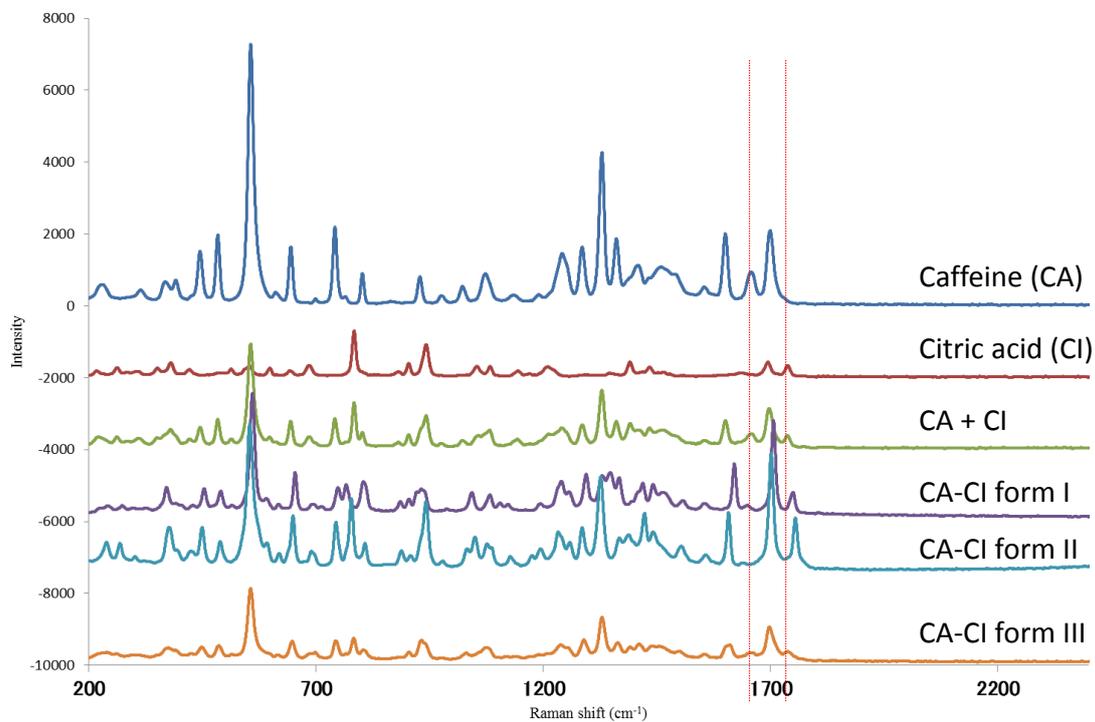


Figure 3.2. Raman spectra of caffeine, citric acid, and co-crystals.

### 第3項 赤外吸収スペクトル

出発物質およびそれらの物理的混合物、各 CA-CI の IR スペクトルを Figure 3.3 に示す。CA は  $1670\text{ cm}^{-1}$  および  $1700\text{ cm}^{-1}$  にカルボニル基の吸収に由来する特徴的なピークを示した。CI は  $1700\text{ cm}^{-1}$  および  $1760\text{ cm}^{-1}$  にカルボキシル基、 $3490\text{ cm}^{-1}$  にヒドロキシル基に由来する特徴的なピークを示した。各 CA-CI については、CI のヒドロキシル基に由来するピーク ( $3490\text{ cm}^{-1}$ ) が低波数側にシフトしていた。

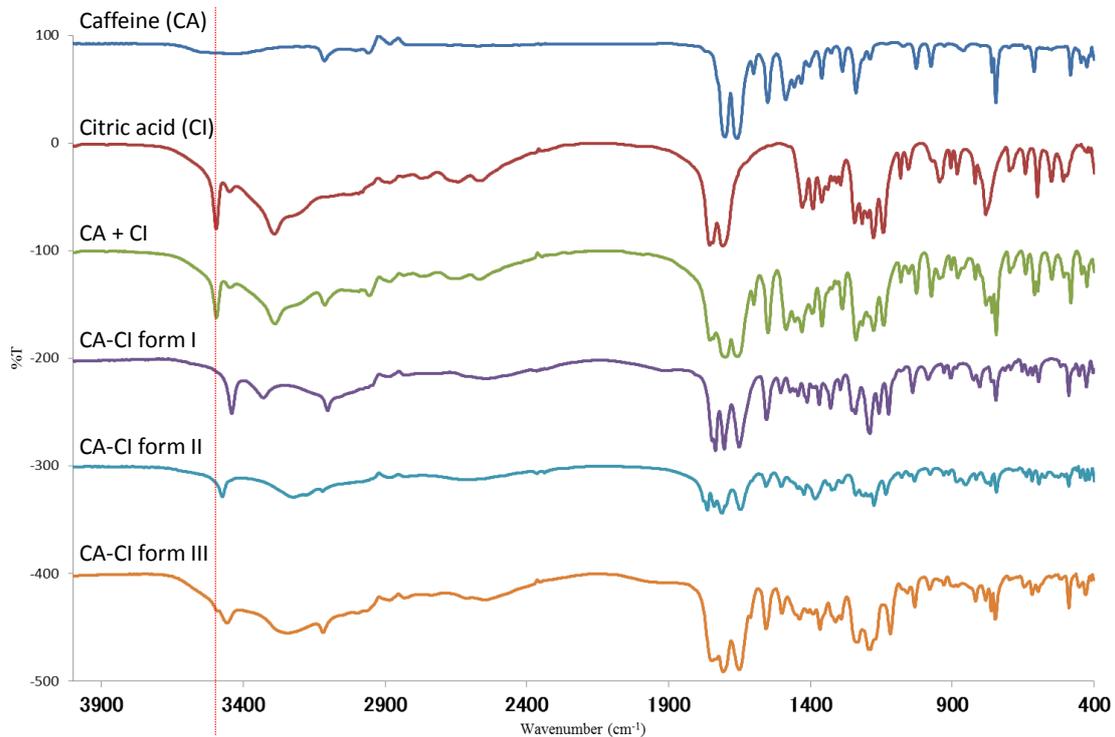


Figure 3.3. IR spectra of caffeine, citric acid, and co-crystals.

#### 第4項 熱分析結果

出発物質およびその物理的混合物、各 CA-CI の DSC 測定結果を Figure 3.4 に示す。CA は 145 °C および 235 °C にピークを示した。既知の報告によると、145 °C の幅の広いピークは CA の II 形結晶から I 形結晶への結晶多形転移に由来し、235 °C の鋭いピークは I 形の融解によるとされている。<sup>100</sup> CI は 150 °C に融解による吸熱ピークを示した。また、CI は 210 °C 以上で気化することが確認された。CA-CI の I 形結晶、II 形結晶および III 形結晶は、それぞれ 141 °C (融解熱: 127 kJ/g)、160 °C (融解熱: 139 kJ/g) および 131 °C (融解熱: 103 kJ/g) に融解ピークを示した。TGA 分析の結果、いずれの CA-CI も重量減少は確認されず、3 つの共結晶は無溶媒和物であることが示唆された。

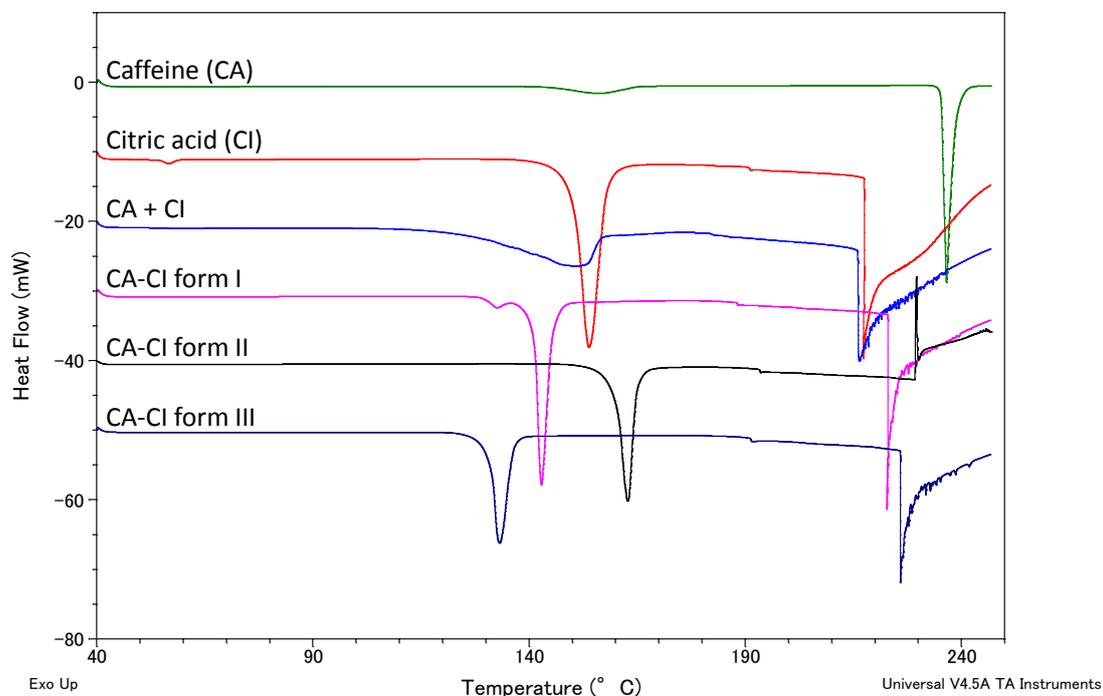


Figure 3.4. DSC thermograms of caffeine, citric acid, and co-crystals.

#### 第5項 示差走査熱量 - 粉末 X 線回折測定の結果

CA および CI の物理的混合物の DSC チャート上に、いくつかの熱量変化を確認したため、CA および CI の物理的混合物および粉碎混合物の DSC-XRD 測定を実施した。粉碎混合物を加熱した際、85 °C 付近において吸熱ピークを伴い、CA および CI の回折図は一部 CA-CI の III 形結晶へと変化した (Figure 3.5)。その後、130 °C で融解したが、この温度は CA-CI の III 形結晶の融点と一致している。

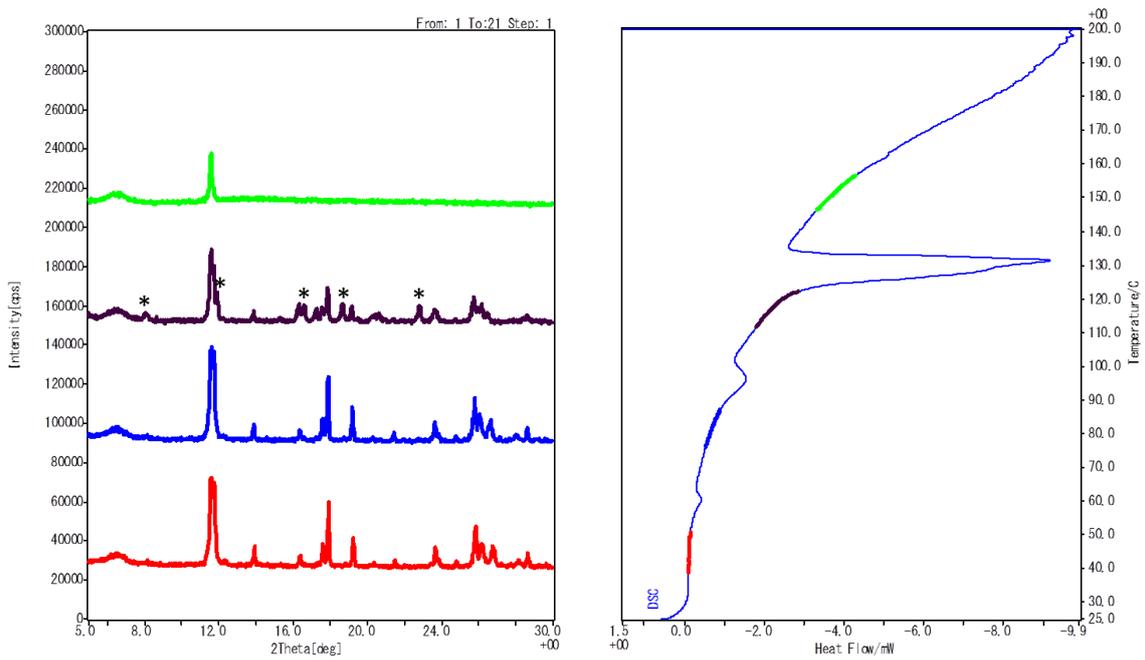


Figure 3.5. Result of DSC- XRD analysis of physical mixture of caffeine and citric acid. Asterisks show the peaks of the pattern of CA-CI form III.

#### 第6項 動的水蒸気吸脱着測定の結果

各 CA-CI における水蒸気の吸脱着挙動を Figure 3.6 に示す。吸湿過程において、CA-CI の III 形結晶は 75%RH で 4.7%重量増加した。さらに、すべての CA-CI は、90%RH 以上で潮解することも確認された。

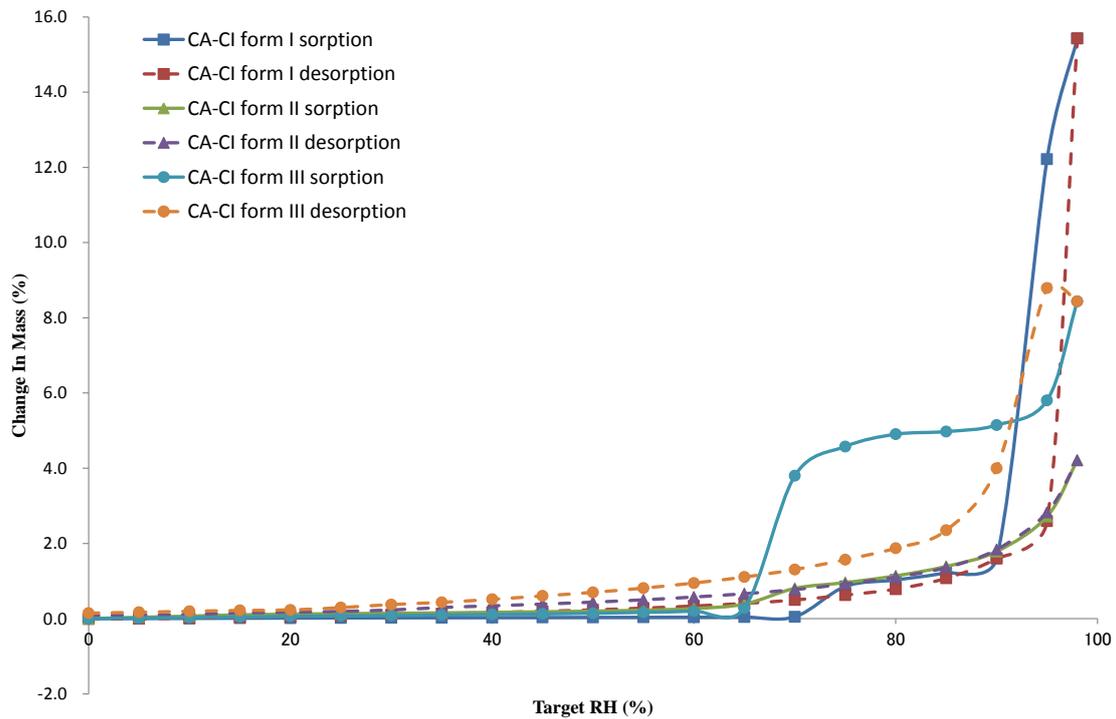


Figure 3.6. Sorption and desorption curves of caffeine-citric acid co-crystals (CA-CIs).

#### 第7項 熱力学的安定性序列の決定

スラリー競合試験の結果を Figure 3.7 に示す。室温下、CA-CI の I 形結晶は II 形結晶へと変化した。この結果は、II 形結晶が I 形結晶よりも熱力学的に安定であることを示唆している。同様の方法で、III 結晶は I 形結晶や II 形結晶よりも安定でないことが確認された。そのため、CA-CI の熱力学的安定性の序列を以下のように決定した。

II 形結晶 > I 形結晶 > III 形結晶

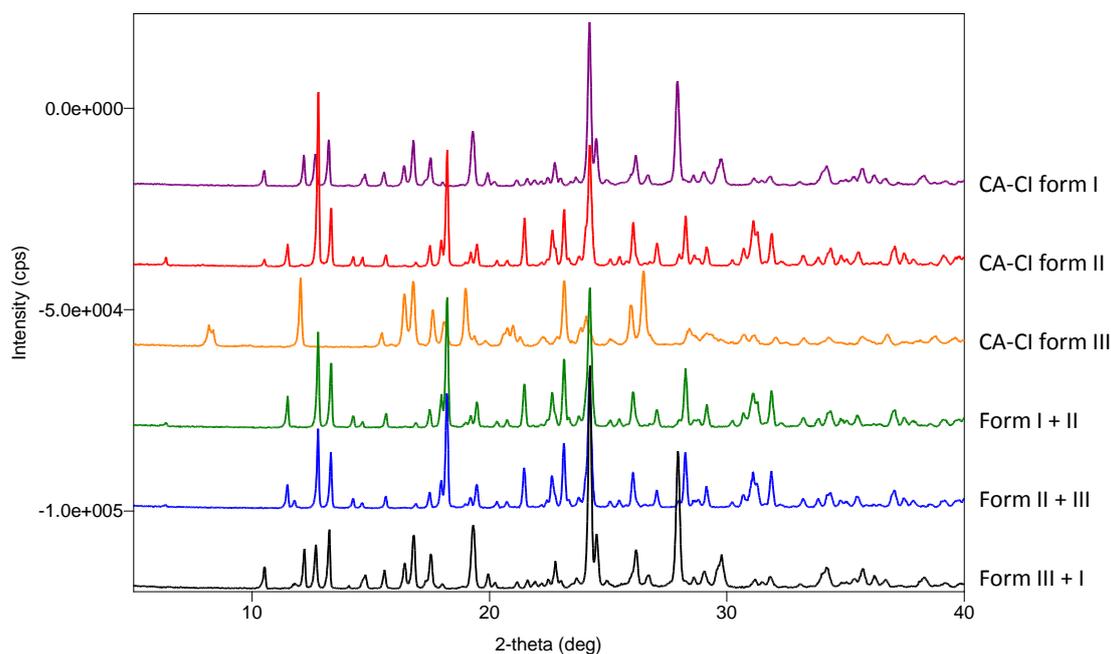


Figure 3.7. PXRD patterns obtained for the slurry conversion experiment.

#### 第4節 考察

CA-CIのI形結晶およびII形結晶の結晶構造は既に報告されている。<sup>73,99</sup> この2つの結晶は異なった回折図を示している。しかし、第1章においてCAおよびCIのLAG法で得られた結晶はこれらの回折図と異なっていた。これは新しい結晶多形(III形結晶)の存在を示唆している。さらに、第1章でCA-malonic acid共結晶やCA-maleic acid共結晶にCIを加えた場合、回折図はCA-CIのIII形結晶へ変わることが確認されている。また、最近、下野らによって、CAおよびCIのLAG法により、同じ回折図を示す結晶が報告されている。<sup>101</sup> しかし、以前の報告で、Karkiらは、III形結晶と類似の回折図を物理的混合物のものであるとしている。そこで、本研究では、初めにCA-CIのIII結晶の存在について確認を行った。

IRおよびラマン測定におけるピーク(Figure 3.2および3.3)のシフトは、III形結晶中のCAおよびCI分子が相互作用していることを示唆している。また、3つのCA-CIは、いずれもCAおよびCI、その物理的混合物とは異なるDSC挙動を示した。動的な水蒸気吸脱着

(DVS) 測定においては、各共結晶の臨界相対湿度は CA (69%RH で 1 水和物を形成) および CI (75%RH で潮解) とは異なっていた。<sup>102,103</sup> さらに、CA-malonic acid 共結晶および CA-maleic acid 共結晶に CI を添加した際、CA が解離して、CA および CI の混合物が得られるということは考えにくい。これらのデータから、CA-CI の III 形結晶は存在していると考えられる。残念ながら、まだ III 形結晶の単結晶 X 線構造解析は成功していない。さらに、III 形結晶はこの研究に用いるために数回に分けて十分な量が調製されたが、より安定な結晶の出現により、III 結晶を得ることはできなくなった。このような現象は過去にもいくつか報告されている。<sup>104,105</sup> 興味深いことに、CA および CI の粉碎混合物の DSC および DSC-XRD 測定の際に、III 形結晶が生じていることが確認されている。一般的に、準安定結晶は安定結晶より水溶性が高くなる。そのため、水溶性の改善という目的においては、準安定結晶を再現良く調製できることは重要である。本結果は、III 結晶を再現良く調製できる方法のきっかけになると考えている。

スラリー法により決定した熱力学的安定性序列は融点および融解熱の順と良い相関を示した。III 形結晶は他の 2 つの結晶より安定ではないため、一時的にしか取得することができなかったと考えられる。

CA は水和物を形成することから、水に対する安定性が悪いことが知られている。<sup>74</sup> CI も 75%RH 以上で潮解する。本研究結果は、CA-CI を形成することで、CA および CI の水に対する安定性の悪さが改善できていることを示唆している。特に、I 形結晶および II 形結晶において改善効果は顕著である。III 形結晶は 75%RH で CA-CI の水和物へ相転移していることが示唆される。

本研究において、3 つの CA-CI のラマン散乱分光測定、赤外吸収分光測定および DVS 測定は初めて実施された。さらに、3 つの共結晶の室温における熱力学的安定性序列も決定された。この情報は、CA-CI の今後の研究にとって大きな価値を持つものであると考えられる。

## 第5節 小括

CA-CI の III 形結晶の赤外吸収分光測定、ラマン散乱分光測定、DSC および DVS の各測定結果は、I 形結晶、II 形結晶および CA と CI の物理的混合物のデータとは異なることが確認された。さらに、室温における 3 つの共結晶の熱力学的安定性序列を決定した。その序列は、II 形結晶 > I 形結晶 > III 形結晶の順であった。

## 総括

5つの caffeine (CA) 共結晶を用いた CCF 交換反応の検討により、CCF 交換反応は熱力学的安定性序列を決定するための手法として有効であることが確認された。また、得られた CA 共結晶の安定性序列と水素結合エネルギー差 ( $\Delta E$ ) の順は良い相関を示した。これらのことから、CCF 交換反応により決定した熱力学的安定性序列を用いて、 $\Delta E$  等の *in silico* 予測パラメータを評価することが可能であることが確認された。

また、3つの acetaminophen (AC) 共結晶および2つの theophylline 共結晶を用いて CCF 交換反応を行い、熱力学的安定性序列を決定した。得られた AC 共結晶の安定性序列と  $\Delta E$  および混合熱 ( $H_{ex}$ ) の順を比較した結果、安定性序列と  $\Delta E$  の順に相関が確認された。一方で、 $H_{ex}$  については相関が認められなかった。このことから、共結晶形成に水素結合が強く影響する場合は、共結晶の形成予測に  $\Delta E$  を用いることが適していると考えられた。また、5つの共結晶の安定性序列は、融点および分解温度とも良い一致を示した。

CA 共結晶の検討の際に得られた CA-citric acid (CI) 共結晶は、既知の I 形結晶および II 形結晶とは異なる回折図を示した。この結晶の各種スペクトル、DSC および DVS 測定の結果は、I 形結晶、II 形結晶、CA、CI およびその物理的混合物とは異なることが確認され、CA-CI 共結晶の新規結晶多形 (III 形結晶) であることが明らかになった。また、3つの共結晶間の熱力学的安定性序列を決定し、その順は II 形結晶 > I 形結晶 > III 形結晶であった。

本研究において、CCF 交換反応が共結晶の熱力学的安定性序列を決定するための手法として有効であることが示された。また、CA および AC をモデル化合物として、CCF 交換反応により決定した安定性序列および共結晶形成の予測パラメータである  $\Delta E$  および  $H_{ex}$  の順を比較することにより、予測パラメータを評価することができた。また、その結果から、共結晶形成に水素結合が大きく影響を及ぼす場合、 $\Delta E$  を用いることにより共結晶形成が精度良く予測できることが示唆された。まだ実施したモデル化合物の例は少ないが、本法を

用いて多くの化合物の評価を行うことにより、最適な共結晶形成の予測パラメータを見出すことができると考える。本手法が効率的な共結晶スクリーニング法の開発につながり、より服用しやすい医薬品を早期に患者へ届けるための一助となることを期待している。

## 謝辞

本研究を行うにあたり、温かいご指導・ご助言を賜りました高崎健康福祉大学薬学部 寺田勝英教授および東邦大学薬学部 菅野清彦准教授に深く感謝申し上げます。

本研究を行うにあたり、深いご理解と激励を賜りました旭化成ファーマ株式会社 医薬研究センター 松崎修センター長に感謝申し上げます。

本研究へのご理解と研究の機会を賜りました旭化成ファーマ株式会社 医薬研究センター 製剤研究部 神谷潔部長（現 医薬生産センター 富士医薬工場長）、研究推進部 宮田和成部長（現 医薬生産センター長）、創薬研究部 南雲啓充部長および小川潔ユニットリーダーに厚く御礼申し上げます。

本研究を共に行って下さった東邦大学薬学部 薬剤学教室 渡邊有加氏および佐藤春菜氏に感謝申し上げます。

本研究に関して、親身に相談に乗って下さった旭化成ファーマ株式会社 医薬研究センター 創薬研究部 高島好聖研究員（現 合成化学研究部 主幹研究員）、大野麻美研究員（現 CMC 研究部）、別所幸治研究員（現 臨床開発センター 臨床開発部）および坪井千明研究員に感謝を表します。

最後に、勉学・研究を行うにあたり不自由なく育ててくれた両親、主に精神面で筆者を支えてくれた多くの友人、そして家族に感謝いたします。

## 参考文献

1. 永井恒司、園部尚. 医薬品の開発と生産～レギュラトリーサイエンスの基礎. じほう 2010.
2. Schultheiss N, Newman A. Pharmaceutical cocrystals and their physicochemical properties. *Crystal Growth and Design* 2009;9(6):2950-2967.
3. Aitipamula S, Banerjee R, Bansal AK, Biradha K, Cheney ML, Choudhury AR, Desiraju GR, Dikundwar AG, Dubey R, Duggirala N, Ghogale PP, Ghosh S, Goswami PK, Goud NR, Jetti RRKR, Karpinski P, Kaushik P, Kumar D, Kumar V, Moulton B, Mukherjee A, Mukherjee G, Myerson AS, Puri V, Ramanan A, Rajamannar T, Reddy CM, Rodriguez-Hornedo N, Rogers RD, Row TNG, Sanphui P, Shan N, Shete G, Singh A, Sun CC, Swift JA, Thaimattam R, Thakur TS, Kumar Thaper R, Thomas SP, Tothadi S, Vangala VR, Variankaval N, Vishweshwar P, Weyna DR, Zaworotko MJ. Polymorphs, Salts, and Cocrystals: What's in a Name? *Crystal Growth and Design* 2012;12(5):2147-2152.
4. 深水啓朗, 山下博之, 小野誠. 医薬品の原薬形態である塩と共結晶のレギュレーションに関する現状と提言. *医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス* 2015;46(5):326-329.
5. Guidance for Industry Regulatory Classification of Pharmaceutical Co-Crystal. Food and Drug Administration, Silver Spring MD April 2013.
6. Public consultations; Draft reflection paper on the use of cocrystals and other solid-state forms of active substances in medicinal products. European Medicines Agency July 2014.
7. Regulatory Classification of Pharmaceutical Co-Crystals Guidance for Industry Food and Drug Administration, Silver Spring MD August 2016.
8. Brown D. Unfinished business: target-based drug discovery. *Drug Discovery Today* 2007;12(23-24):1007-1012.

9. Babu YS, Chand P, Bantia S, Kotian P, Dehghani A, El-Kattan Y, Lin T-H, Hutchison TL, Elliott AJ, Parker CD. BCX-1812 (RWJ-270201): discovery of a novel, highly potent, orally active, and selective influenza neuraminidase inhibitor through structure-based drug design. *Journal of Medicinal Chemistry* 2000;43(19):3482-3486.
10. Cui JJ, Tran-Dube M, Shen H, Nambu M, Kung PP, Pairish M, Jia L, Meng J, Funk L, Botrous I, McTigue M, Grodsky N, Ryan K, Padriquer E, Alton G, Timofeevski S, Yamazaki S, Li Q, Zou H, Christensen J, Mroczkowski B, Bender S, Kania RS, Edwards MP. Structure based drug design of crizotinib (PF-02341066), a potent and selective dual inhibitor of mesenchymal-epithelial transition factor (c-MET) kinase and anaplastic lymphoma kinase (ALK). *Journal of Medicinal Chemistry* 2011;54(18):6342-6363.
11. Hughes NE, Bleisch TJ, Jones SA, Richardson TI, Doti RA, Wang Y, Stout SL, Durst GL, Chambers MG, Oskins JL, Lin C, Adams LA, Page TJ, Barr RJ, Zink RW, Osborne H, Montrose-Rafizadeh C, Norman BH. Identification of potent and selective retinoic acid receptor gamma (RAR $\gamma$ ) antagonists for the treatment of osteoarthritis pain using structure based drug design. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* 2016;26(14):3274-3277.
12. Yokokawa F, Nilar S, Noble CG, Lim SP, Rao R, Tania S, Wang G, Lee G, Hunziker J, Karuna R, Manjunatha U, Shi PY, Smith PW. Discovery of Potent Non-Nucleoside Inhibitors of Dengue Viral RNA-Dependent RNA Polymerase from a Fragment Hit Using Structure-Based Drug Design. *Journal of Medicinal Chemistry* 2016;59(8):3935-3952.
13. 笠井献一. 表面プラズモン共鳴 (SPR) を利用したバイオセンサ. *蛋白質核酸酵素* 1992;37(15):2977-2984.
14. Giannetti AM, Koch BD, Browner MF. Surface plasmon resonance based assay for the detection and characterization of promiscuous inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*

- 2008;51(3):574-580.
15. Lund BA, Christopeit T, Guttormsen Y, Bayer A, Leiros HK. Screening and Design of Inhibitor Scaffolds for the Antibiotic Resistance Oxacillinase-48 (OXA-48) through Surface Plasmon Resonance Screening. *Journal of Medicinal Chemistry* 2016;59(11):5542-5554.
  16. Sugano K, Okazaki A, Sugimoto S, Tavornvipas S, Omura A, Mano T. Solubility and Dissolution Profile Assessment in Drug Discovery. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics* 2007;22(4):225-254.
  17. Stella VJ, Nti-Addae KW. Prodrug strategies to overcome poor water solubility. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2007;59(7):677-694.
  18. Rautio J, Kumpulainen H, Heimbach T, Oliyai R, Oh D, Järvinen T, Savolainen J. Prodrugs: design and clinical applications. *Nature Reviews Drug Discovery* 2008;7(3):255-270.
  19. Elder DP, Holm R, Diego HL. Use of pharmaceutical salts and cocrystals to address the issue of poor solubility. *International Journal of Pharmaceutics* 2013;453(1):88-100.
  20. Jung J-Y, Yoo SD, Lee S-H, Kim K-H, Yoon D-S, Lee K-H. Enhanced solubility and dissolution rate of itraconazole by a solid dispersion technique. *International Journal of Pharmaceutics* 1999;187(2):209-218.
  21. Vasconcelos T, Sarmiento B, Costa P. Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs. *Drug Discovery Today* 2007;12(23-24):1068-1075.
  22. Fakes MG, Vakkalagadda BJ, Qian F, Desikan S, Gandhi RB, Lai C, Hsieh A, Franchini MK, Toale H, Brown J. Enhancement of oral bioavailability of an HIV-attachment inhibitor by nanosizing and amorphous formulation approaches. *International Journal of Pharmaceutics* 2009;370(1-2):167-174.
  23. Merisko-Liversidge E, Liversidge GG, Cooper ER. Nanosizing: a formulation approach for

- poorly-water-soluble compounds. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2003;18(2):113-120.
24. Carrier RL, Miller LA, Ahmed I. The utility of cyclodextrins for enhancing oral bioavailability. *Journal of Controlled Release* 2007;123(2):78-99.
  25. Rawat S, Jain SK. Solubility enhancement of celecoxib using beta-cyclodextrin inclusion complexes. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2004;57(2):263-267.
  26. Sugano K. 2012. *Biopharmaceutics modeling and simulations: Theory, practice, methods, and applications*. ed.: John Wiley & Sons.
  27. Amidon GL, Lennernäs H, Shah VP, Crison JR. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharmaceutical Research* 1995;12(3):413-420.
  28. Ginski MJ, Polli JE. Prediction of dissolution–absorption relationships from a dissolution/Caco-2 system. *International Journal of Pharmaceutics* 1999;177(1):117-125.
  29. Gwak HS, Choi JS, Choi HK. Enhanced bioavailability of piroxicam via salt formation with ethanolamines. *International Journal of Pharmaceutics* 2005;297(1-2):156-161.
  30. Desai H, Rao L, Amin P. Carbamazepine cocrystals by solvent evaporation technique: formulation and characterisation studies. *American Journal of Pharm Tech Research* 2014;4.
  31. Gagniere E, Mangin D, Puel F, Valour J-P, Klein J-P, Monnier O. Cocrystal formation in solution: Inducing phase transition by manipulating the amount of cocrystallizing agent. *Journal of Crystal Growth* 2011;316(1):118-125.
  32. Wang IC, Lee MJ, Sim SJ, Kim WS, Chun NH, Choi GJ. Anti-solvent co-crystallization of carbamazepine and saccharin. *International Journal of Pharmaceutics* 2013;450(1-2):311-322.
  33. Takata N, Shiraki K, Takano R, Hayashi Y, Terada K. Cocrystal screening of stanolone and

- mestanolone using slurry crystallization. *Crystal Growth and Design* 2008;8(8):3032-3037.
34. Friščić T, Jones W. Recent advances in understanding the mechanism of cocrystal formation via grinding. *Crystal Growth and Design* 2009;9(3):1621-1637.
  35. Lin H-L, Wu T-K, Lin S-Y. Screening and characterization of cocrystal formation of metaxalone with short-chain dicarboxylic acids induced by solvent-assisted grinding approach. *Thermochimica Acta* 2014;575:313-321.
  36. Aher S, Dhumal R, Mahadik K, Paradkar A, York P. Ultrasound assisted cocrystallization from solution (USSC) containing a non-congruently soluble cocrystal component pair: Caffeine/maleic acid. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2010;41(5):597-602.
  37. Thakuria R, Delori A, Jones W, Lipert MP, Roy L, Rodriguez-Hornedo N. Pharmaceutical cocrystals and poorly soluble drugs. *International Journal of Pharmaceutics* 2013;453(1):101-125.
  38. Bavishi DD, Borkhataria CH. Spring and parachute: How cocrystals enhance solubility. *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials* 2016;62(3):1-8.
  39. Wang Z-Z, Chen J-M, Lu T-B. Enhancing the Hygroscopic Stability of S-Oxiracetam via Pharmaceutical Cocrystals. *Crystal Growth and Design* 2012;12(9):4562-4566.
  40. Sun CC, Hou H. Improving mechanical properties of caffeine and methyl gallate crystals by cocrystallization. *Crystal Growth and Design* 2008;8(5):1575-1579.
  41. Karki S, Friščić T, Fábíán L, Laity PR, Day GM, Jones W. Improving mechanical properties of crystalline solids by cocrystal formation: new compressible forms of paracetamol. *Advanced materials* 2009;21(38 - 39):3905-3909.
  42. スーグラ錠 25mg スーグラ錠 50mg 添付文書.
  43. Stahl PH, Wermuth CG. 2002. *Handbook of Pharmaceutical salts: Properties, selection, and use*. ed.: John Wiley & Sons.

44. Food U, Administration D. 2011. Generally recognized as safe (GRAS). ed.
45. Kojima T, Onoue S, Murase N, Katoh F, Mano T, Matsuda Y. Crystalline form information from multiwell plate salt screening by use of Raman microscopy. *Pharmaceutical Research* 2006;23(4):806-812.
46. Yamashita H, Hirakura Y, Yuda M, Terada K. Coformer Screening Using Thermal Analysis Based on Binary Phase Diagrams. *Pharmaceutical Research* 2014;31(8):1946-1957.
47. Yamashita H, Hirakura Y, Yuda M, Teramura T, Terada K. Detection of cocrystal formation based on binary phase diagrams using thermal analysis. *Pharmaceutical Research* 2013;30(1):70-80.
48. Yamamoto K, Tsutsumi S, Ikeda Y. Establishment of cocrystal cocktail grinding method for rational screening of pharmaceutical cocrystals. *International Journal of Pharmaceutics* 2012;437(1-2):162-171.
49. Abramov YA, Loschen C, Klamt A. Rational coformer or solvent selection for pharmaceutical cocrystallization or desolvation. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2012;101(10):3687-3697.
50. Grecu T, Adams H, Hunter CA, McCabe JF, Portell A, Prohens R. Virtual Screening Identifies New Cocrystals of Nalidixic Acid. *Crystal Growth and Design* 2014;14(4):1749-1755.
51. Grecu T, Hunter CA, Gardiner EJ, McCabe JF. Validation of a Computational Cocrystal Prediction Tool: Comparison of Virtual and Experimental Cocrystal Screening Results. *Crystal Growth and Design* 2014;14(1):165-171.
52. Issa N, Karamertzanis PG, Welch GW, Price SL. Can the formation of pharmaceutical cocrystals be computationally predicted? I. Comparison of lattice energies. *Crystal Growth and Design* 2009;9(1):442-453.

53. Karamertzanis PG, Kazantsev AV, Issa N, Welch GW, Adjiman CS, Pantelides CC, Price SL. Can the formation of pharmaceutical cocrystals be computationally predicted? 2. Crystal structure prediction. *Journal of Chemical Theory and Computation* 2009;5(5):1432-1448.
54. Kuleshova LN, Hofmann DWM, Boese R. Lattice energy calculation – A quick tool for screening of cocrystals and estimation of relative solubility. Case of flavonoids. *Chemical Physics Letters* 2013;564:26-32.
55. Mohammad MA, Alhalaweh A, Velaga SP. Hansen solubility parameter as a tool to predict cocrystal formation. *International Journal of Pharmaceutics* 2011;407(1-2):63-71.
56. Musumeci D, Hunter CA, Prohens R, Scuderi S, McCabe JF. Virtual cocrystal screening. *Chemical Science* 2011;2(5):883-890.
57. Caira MR, Nassimbeni LR, Wildervanck AF. Selective formation of hydrogen bonded cocrystals between a sulfonamide and aromatic carboxylic acids in the solid state. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2* 1995;(12):2213-2216.
58. Moribe K, Nagai A, Hagiwara Y, Limwikrant W, Higashi K, Yamamoto K. Carbamazepine-dicarboxylic Acid Cocrystal Formation Induced by Multicomponent Cogrounding and Exchange Reaction of Dicarboxylic Acids. *Journal of the Society of Powder Technology, Japan* 2012;49(3):184-190.
59. Almarsson O, Zaworotko MJ. Crystal engineering of the composition of pharmaceutical phases. Do pharmaceutical co-crystals represent a new path to improved medicines? *Chem Commun (Camb)* 2004;(17):1889-1896.
60. Blagden N, de Matas M, Gavan PT, York P. Crystal engineering of active pharmaceutical ingredients to improve solubility and dissolution rates. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2007;59(7):617-630.
61. Fleischman SG, Kuduva SS, McMahon JA, Moulton B, Bailey Walsh RD,

- Rodríguez-Hornedo N, Zaworotko MJ. Crystal engineering of the composition of pharmaceutical phases: multiple-component crystalline solids involving carbamazepine. *Crystal Growth and Design* 2003;3(6):909-919.
62. Friščić T, Jones W. Benefits of cocrystallisation in pharmaceutical materials science: an update. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2010;62(11):1547-1559.
63. Qiao N, Li M, Schlindwein W, Malek N, Davies A, Trappitt G. Pharmaceutical cocrystals: an overview. *International Journal of Pharmaceutics* 2011;419(1-2):1-11.
64. Remenar JF, Morissette SL, Peterson ML, Moulton B, MacPhee JM, Guzmán HR, Almarsson Ö. Crystal engineering of novel cocrystals of a triazole drug with 1, 4-dicarboxylic acids. *Journal of the American Chemical Society* 2003;125(28):8456-8457.
65. Shan N, Zaworotko MJ. The role of cocrystals in pharmaceutical science. *Drug Discovery Today* 2008;13(9-10):440-446.
66. Vishweshwar P, McMahon JA, Bis JA, Zaworotko MJ. Pharmaceutical co-crystals. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2006;95(3):499-516.
67. Walsh RDB, Bradner MW, Fleischman S, Morales LA, Moulton B, Rodríguez-Hornedo N, Zaworotko MJ. Crystal engineering of the composition of pharmaceutical phases. *Chemical Communications* 2003;(2):186-187.
68. Bysouth SR, Bis JA, Igo D. Cocrystallization via planetary milling: enhancing throughput of solid-state screening methods. *International Journal of Pharmaceutics* 2011;411(1-2):169-171.
69. Kojima T, Tsutsumi S, Yamamoto K, Ikeda Y, Moriwaki T. High-throughput cocrystal slurry screening by use of in situ Raman microscopy and multi-well plate. *International Journal of Pharmaceutics* 2010;399(1-2):52-59.
70. Leung DH, Lohani S, Ball RG, Canfield N, Wang Y, Rhodes T, Bak A. Two Novel

- Pharmaceutical Cocrystals of a Development Compound – Screening, Scale-up, and Characterization. *Crystal Growth and Design* 2012;12(3):1254-1262.
71. Bučar D-Ki, Henry RF, Lou X, Duerst RW, MacGillivray LR, Zhang GG. Cocrystals of caffeine and hydroxybenzoic acids composed of multiple supramolecular heterosynthons: screening via solution-mediated phase transformation and structural characterization. *Crystal Growth and Design* 2009;9(4):1932-1943.
72. Guo K, Sadiq G, Seaton C, Davey R, Yin Q. Co-Crystallization in the Caffeine/Maleic Acid System: Lessons from Phase Equilibria. *Crystal Growth and Design* 2010;10(1):268-273.
73. Karki S, Friščić T, Jones W, Motherwell WS. Screening for pharmaceutical cocrystal hydrates via neat and liquid-assisted grinding. *Molecular Pharmaceutics* 2007;4(3):347-354.
74. Trask AV, Motherwell WS, Jones W. Pharmaceutical cocrystallization: engineering a remedy for caffeine hydration. *Crystal Growth and Design* 2005;5(3):1013-1021.
75. Habgood M, Price SL. Isomers, Conformers, and Cocrystal Stoichiometry: Insights from the Crystal Energy Landscapes of Caffeine with the Hydroxybenzoic Acids. *Crystal Growth and Design* 2010;10(7):3263-3272.
76. Bučar D-K, Henry RF, Lou X, Borchardt TB, Zhang GG. A “hidden” co-crystal of caffeine and adipic acid. *Chemical Communications* 2007;(5):525-527.
77. Gelbrich T, Hursthouse MB. Systematic investigation of the relationships between 25 crystal structures containing the carbamazepine molecule or a close analogue: a case study of the XPac method. *CrystEngComm* 2006;8(6):448.
78. Good DJ, Rodríguez-Hornedo Nr. Solubility advantage of pharmaceutical cocrystals. *Crystal Growth and Design* 2009;9(5):2252-2264.
79. André V, da Piedade MFM, Duarte MT. Revisiting paracetamol in a quest for new co-crystals. *CrystEngComm* 2012;14(15):5005-5014.

80. Maeno Y, Fukami T, Kawahata M, Yamaguchi K, Tagami T, Ozeki T, Suzuki T, Tomono K. Novel pharmaceutical cocrystal consisting of paracetamol and trimethylglycine, a new promising cocrystal former. *International Journal of Pharmaceutics* 2014;473(1-2):179-186.
81. Oswald ID, Allan DR, McGregor PA, Motherwell WS, Parsons S, Pulham CR. The formation of paracetamol (acetaminophen) adducts with hydrogen-bond acceptors. *Acta Crystallographica Section B: Structural Science* 2002;58(6):1057-1066.
82. Sander JR, Bucar DK, Henry RF, Baltrusaitis J, Zhang GG, MacGillivray LR. A red zwitterionic co-crystal of acetaminophen and 2,4-pyridinedicarboxylic acid. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2010;99(9):3676-3683.
83. Trask AV, Motherwell WD, Jones W. Physical stability enhancement of theophylline via cocrystallization. *International Journal of Pharmaceutics* 2006;320(1-2):114-123.
84. Zhang S, Rasmuson ÅC. The theophylline–oxalic acid co-crystal system: solid phases, thermodynamics and crystallisation. *CrystEngComm* 2012;14(14):4644.
85. Momma K, Izumi F. VESTA 3 for three-dimensional visualization of crystal, volumetric and morphology data. *Journal of Applied Crystallography* 2011;44(6):1272-1276.
86. Aakeröy CB, Forbes S, Desper J. Using cocrystals to systematically modulate aqueous solubility and melting behavior of an anticancer drug. *Journal of the American Chemical Society* 2009;131(47):17048-17049.
87. Bak A, Gore A, Yanez E, Stanton M, Tufekcic S, Syed R, Akrami A, Rose M, Surapaneni S, Bostick T, King A, Neervannan S, Ostovic D, Koparkar A. The co-crystal approach to improve the exposure of a water-insoluble compound: AMG 517 sorbic acid co-crystal characterization and pharmacokinetics. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2008;97(9):3942-3956.
88. Basavoju S, Bostrom D, Velaga SP. Indomethacin-saccharin cocrystal: design, synthesis and

- preliminary pharmaceutical characterization. *Pharmaceutical Research* 2008;25(3):530-541.
89. Hickey MB, Peterson ML, Scopettuolo LA, Morrisette SL, Vetter A, Guzman H, Remenar JF, Zhang Z, Tawa MD, Haley S, Zaworotko MJ, Almarsson O. Performance comparison of a co-crystal of carbamazepine with marketed product. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2007;67(1):112-119.
90. McNamara DP, Childs SL, Giordano J, Iarriccio A, Cassidy J, Shet MS, Mannion R, O'Donnell E, Park A. Use of a glutaric acid cocrystal to improve oral bioavailability of a low solubility API. *Pharmaceutical Research* 2006;23(8):1888-1897.
91. Shiraki K, Takata N, Takano R, Hayashi Y, Terada K. Dissolution improvement and the mechanism of the improvement from cocrystallization of poorly water-soluble compounds. *Pharmaceutical Research* 2008;25(11):2581-2592.
92. Stanton MK, Bak A. Physicochemical properties of pharmaceutical co-crystals: a case study of ten AMG 517 co-crystals. *Crystal Growth and Design* 2008;8(10):3856-3862.
93. Bethune SJ, Schultheiss N, Henck J-O. Improving the Poor Aqueous Solubility of Nutraceutical Compound Pterostilbene through Cocrystal Formation. *Crystal Growth and Design* 2011;11(7):2817-2823.
94. Bučar D-K, Henry RF, Duerst RW, Lou X, MacGillivray LR, Zhang GGZ. A 1:1 Cocrystal of Caffeine and 2-Hydroxy-1-Naphthoic Acid Obtained via a Slurry Screening Method. *Journal of Chemical Crystallography* 2010;40(11):933-939.
95. Bučar D-K, Henry RF, Lou X, Duerst RW, Borchardt TB, MacGillivray LR, Zhang GG. Co-crystals of caffeine and hydroxy-2-naphthoic acids: unusual formation of the carboxylic acid dimer in the presence of a heterosynthon. *Molecular Pharmaceutics* 2007;4(3):339-346.
96. Madusanka N, Eddleston MD, Arhangelskis M, Jones W. Polymorphs, hydrates and solvates of a co-crystal of caffeine with anthranilic acid. *Acta Crystallographica Section B, Structural*

- Science, Crystal Engineering Materials 2014;70(Pt 1):72-80.
97. Schultheiss\* N, Roe M, Boerrigter SXM. Cocrystals of nutraceuticalp-coumaric acid with caffeine and theophylline: polymorphism and solid-state stability explored in detail using their crystal graphs. CrystEngComm 2011;13(2):611-619.
  98. Yu ZQ, Chow PS, Tan RBH. Operating Regions in Cooling Cocrystallization of Caffeine and Glutaric Acid in Acetonitrile. Crystal Growth and Design 2010;10(5):2382-2387.
  99. Smit JP, Hagen EJ. Polymorphism in Caffeine Citric Acid Cocrystals. Journal of Chemical Crystallography 2015;45(3):128-133.
  100. Cesaro A, Starec G. Thermodynamic properties of caffeine crystal forms. The Journal of Physical Chemistry 1980;84(11):1345-1346.
  101. Shimono K, Kadota K, Tozuka Y, Shimosaka A, Shirakawa Y, Hidaka J. Kinetics of co-crystal formation with caffeine and citric acid via liquid-assisted grinding analyzed using the distinct element method. European Journal of Pharmaceutical Sciences 2015;76:217-224.
  102. Baird JA, Olayo - Valles R, Rinaldi C, Taylor LS. Effect of molecular weight, temperature, and additives on the moisture sorption properties of polyethylene glycol. Journal of pharmaceutical sciences 2010;99(1):154-168.
  103. Krzyzaniak JF, Williams GR, Ni N. Identification of phase boundaries in anhydrate/hydrate systems. Journal of Pharmaceutical Sciences 2007;96(5):1270-1281.
  104. Chemburkar SR, Bauer J, Deming K, Spiwek H, Patel K, Morris J, Henry R, Spanton S, Dziki W, Porter W. Dealing with the impact of ritonavir polymorphs on the late stages of bulk drug process development. Organic Process Research and Development 2000;4(5):413-417.
  105. Dunitz JD, Bernstein J. Disappearing polymorphs. Accounts of Chemical Research

1995;28(4):193-200.

## 対象論文

1. Mukaida M, Sugano K, Terada K. Stability Order of Caffeine Co-crystals Determined by Co-crystal Former Exchange Reaction and Its Application for the Validation of in Silico Models. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 2015;63(1):18-24.
2. Mukaida M, Watanabe Y, Sugano K, Terada K. Identification and physicochemical characterization of caffeine-citric acid co-crystal polymorphs. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 2015;79:61-66.
3. Mukaida M, Sato H, Sugano K, Terada K. Stability Orders of Acetaminophen and Theophylline Co-crystals Determined by Co-crystal Former Exchange Reactions and Their Correlation With In Silico and Thermal Parameters. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 2017;106(1):258-263.