

令和 2 年 6 月 9 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H02774

研究課題名(和文)フェムト秒レーザーが拓く結晶多形制御技術

研究課題名(英文) Polymorphism control of pharmaceutical organic compounds based on the physical principal clarified by a femtosecond laser

研究代表者

森 勇介 (MORI, Yusuke)

大阪大学・工学研究科・教授

研究者番号：90252618

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：安定形と準安定形の結晶形が酷似しているなどの理由からエピタキシ媒介相転移をする物質については、フェムト秒レーザーの照射エネルギーと総パルス数を極力小さくし、溶液中に単一の結晶のみを核形成することで、純粋な準安定形が得られることが分かった。また、準安定形の成長が完了してから安定形が結晶化するような物質については、ガラス球を用いた溶液攪拌法、超音波印加法、ポリマー表面法など大規模に準安定形を結晶化できる技術を開発し、これによって準安定形を選択的かつ多量に得られるようになった。個々の技術は組み合わせて使うことが可能であり、対象とする物質の性質に応じて、所望の多形を得られる結晶化システムが構築できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発した結晶化システムは、レーザー、超音波、流れなどの外場を用いて結晶化過程を一貫して能動制御するものである。多形制御が極めて困難な、「安定形と準安定形の結晶形が酷似するためにエピタキシ媒介相転移をする物質」についても、レーザーの出力条件の制御によって準安定形を作り分ける方針と手順が明確化された。また、準安定形の大規模結晶化(リトルオーダーでの多形制御)は、超音波印加やポリマー表面状態の利用と種結晶のシーディングを組み合わせることで達成しており、創薬支援技術として利用できる目処がたった。これらの技術は、新薬候補化合物の多形スクリーニングを精密化し、より良く効く薬の開発を加速できる。

研究成果の概要(英文)：We succeeded in establishing crystallization techniques that can selectively grow the metastable phase. When a molecule has multiple crystal phases with identical crystal structure, selective crystallization of metastable phase is extremely difficult, because epitaxial phase transition from metastable phase to stable phase easily occurs. In our study using aspirin as a model material, we succeeded in obtaining a pure metastable single crystal with femtosecond laser-induced nucleation by careful tuning of the laser condition for reducing the number of nuclei. In the crystallization of organic molecules, where the stable phase form after finishing the initial nucleation of metastable phase, methods such as ultrasonic irradiation, the polymer-induced nucleation, and the stirring method by a glass ball are effective. By combining the above techniques, we came to control the polymorphism of various organic molecules, and produce large amount of metastable phase.

研究分野：総合理工

キーワード：結晶工学

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

有機低分子を薬剤として実用化する場合、より体に吸収されやすく安定性が高い物質であることが求められる。一般的に、常温常圧で最も安定な安定形結晶よりも、溶解度が高い準安定形結晶の方が体に吸収されやすくより高い薬効を有することが知られており、薬剤としては準安定形が理想的である。しかし、準安定形は結晶化そのものが困難で実現していないケースも多く、準安定形結晶が得られたとしても、ほとんどの場合は不安定なために薬剤として実用化できない。これらの問題を解決して準安定形結晶を実用化すれば、同じ有機分子でも薬効が飛躍的に高まる。また、既存薬でも、新規多形を発見できれば、特許侵害せずに販売が可能となる。つまり多形制御技術は、“よく効く薬”を、より良いものにでき、さらに安価に提供できるようにするため、その開発が強く求められている。

### 2. 研究の目的

本研究では、申請者らが発見した現象である「フェムト秒レーザー照射による結晶多形制御」の原理を解明し、様々な有機分子の結晶多形制御に有効であることを示す。その原理に基づいて、“安定性の高い準安定形微結晶”を結晶化する新規多形制御技術を開発する。また、創薬支援技術としての実用化を視野に入れ、解明した原理を基に大量生産に対応できるように技術の高度化と一般化を図る。

### 3. 研究の方法

#### (1) フェムト秒レーザーによる結晶多形制御の条件探索

モデル物質として新たにアスピリン [ 解熱鎮痛薬の一つであり、安定形 ( 形 ) と準安定形 ( 形 ) が報告されている ] を導入した。形と形の結晶構造が酷似しているために、多形制御が極めて難しい化合物である。この物質に対して、フェムト秒レーザー ( パルス幅 250 fs、繰り返し周波数 1 kHz のフェムト秒 Ti:sapphire レーザー ) 照射により、形を選択的に得られる条件検討を行った。得られた結晶の相同定にはレーザーラマン顕微鏡を用いた。

#### (2) ポリマーテンプレートを用いた結晶多形制御

難溶性の薬剤候補物質結晶化に対応するために、融液成長するイブプロフェン [ 安定形 ( 形 ) と準安定形 ( 形 ) が報告されている ] を新たなモデル物質として導入した。テフロンシートをテンプレートとして使い、この上で融液からの除冷法による多形制御を検討した。得られた結晶の同定には粉末 X 線による回折 ( PXR D ) を用いた。

#### (3) 溶液攪拌法による準安定形大量合成

モデル物質としてアセトアミノフェン [ 安定形 ( 形 ) と準安定形 ( 形、形 ) 疑似多形 ( 三水和物 ) が報告されている ] を用いた。2 リットルのアセトアミノフェン過飽和溶液を入れた容器中に直径 1~4 mm のガラス球を攪拌子として入れ、ロータリーシェイカーによって緩やかな攪拌 ( 160 rpm ) を行い、結晶化を行った。得られた結晶の同定には PXR D を用いた。

#### (4) 溶液媒介相転移を応用した目的多形の大量合成

(3) の実験で得られる数十グラムのアセトアミノフェン三水和物を含む溶液中に、超音波印加法で得られた高品質な形結晶を種結晶として添加する。その後、溶液媒介相転移が進む様子を観察し、最終的に得られた結晶の同定にはレーザーラマン顕微鏡を用いた。

#### (5) ポリマーと超音波を用いた有機溶媒からの結晶多形制御

難水溶性化合物の結晶化を視野に入れ、有機溶媒を使用した場合にも超音波印加法とポリマー添加法が効果的に適用できるよう、技術拡張を行った。実験系としてはアセトアミノフェンとアセトニトリルの系を用いた。ポリマーの材質は化学的な安定性が高いポリエチレンとテフロンについて検討した。得られた結晶の同定には PXR D を用いた。

### 4. 研究成果

#### (1) フェムト秒レーザーによる結晶多形制御の条件探索

平均出力 10~30 mW, 10~30  $\mu$ J/pulse, 照射時間 30 s の条件において数多く結晶が晶出したが、形と形が混在することがわかった。一方、レーザーを低出力で短時間照射 ( 平均出力 1.5 mW, 1.5  $\mu$ J/pulse, 照射時間 0.5 s ) することで、結晶数が減少した。さらに条件の最適化を進めたところ、最終的に図 1 に示すように溶液中に単一の結晶を得ることに成功した。この結晶を丹念にラマン分光法で調べた結果、純粋な形結晶であることが確認できた。

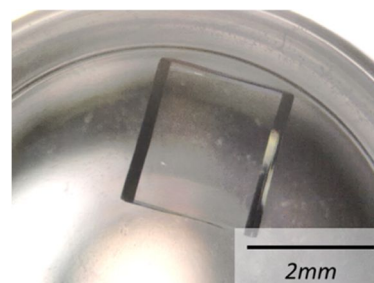


図 1 得られた純粋なアスピリン 形 ( Applied Physics Express, 2018, 12(1): p. 015507. より転載 )

#### (2) ポリマーテンプレートを用いた結晶多形制御

イブプロフェンの形の融点は 76、形の融点は 16 であるため、融液は 90 以上の高温で十分に溶解を行った後、冷却して結晶化を促した。10 ではテフロンの有無に関わらず結晶化が起こらない。0 で静置するとテフロン存在下では 100%結晶化が起こり、形が得られた。テフロンが無い条件下では結晶化確率は 20%程度であり形が混在する、もしくは形のみであった。0 条件でテフ

ロンテンプレートを用いることで、イブプロフェン悪く経時とともに形に相転移することも分かった。そこで、0 条件で形の核形成が確認できた後、速やかに温度を 10 まで上げ、結晶の成長速度を緩やかに行うと、得られた形の安定性は飛躍的に向上した。

### (3) 溶液攪拌法による準安定形大量合成

攪拌球が無い条件および 1mm の球を入れた条件では顕著な結晶化促進は見られなかった。一方、2mm の球が存在すると、22mg/ml よりも高濃度条件で結晶化が見られ、結晶化確率が向上した。

4mm 球存在下では、低濃度 (18mg/ml) でも 50% の確率で結晶化が起こり、より高濃度では 100% の確率で結晶化した (図 2)。Raman 分光の結果、得られた結晶は三水和物であることがわかった。本攪拌技術では一度の操作で数十 g のオーダーで結晶を得ることができるようになった。

### (4) 溶液媒介相転移を応用した目的多形の大量合成

(3) で得られた三水和物と、超音波印加法で得られる形結晶を用いて、リットルオーダーの溶媒媒介相転移を行った。種結晶のサイズと相転移温度を制御し、極めて欠陥が少ない良質な形結晶が一度の合成で 24.9g 得られるようになった (図 3)。これは、本研究室でこれまでに実現していた手法で一回に得られる形結晶の 590 倍という量であり、飛躍的な技術向上である。

### (5) ポリマーと超音波を用いた有機溶媒からの結晶多形制御

ポリマーの種類としてはテフロン球が効率よく結晶核形成を促進することが分かった (図 4)。超音波印加時の結晶化はポリマー球の表面から起こった。また、結晶化の後にポリマー表面に気泡が残ることが分かった。そこでこの気泡の存在が核形成の促進に影響すると考え、脱気実験を行うと、テフロン球の表面からは多くの気泡が発生することが確認できた。テフロン球と超音波の組み合わせで核形成確率は向上するが、球表面の脱気を行うとこの核形成促進効果は低くなった。以上のことから、使用する有機溶媒とポリマー表面の濡れ性が重要であり、できる限り濡れ性が悪い組み合わせを選ぶと、ポリマー表面に気泡がトラップされやすくなり、超音波印加時に高効率にキャピテーションバブルを発生させることができるため、準安定形結晶化の促進に効果的であると結論づけた。

安定形と準安定形の結晶形が酷似しているなどの理由からエピタキシ媒介相転移をする物質については、フェムト秒レーザーの照射エネルギーと総パルス数を極力小さくし、溶液中に単一の結晶のみを核形成することで、純粋な準安定形が得られることが分かった。また、準安定形の成長が完了してから安定形が結晶化するような物質については、ガラス球を用いた溶液攪拌法、超音波印加法、ポリマー表面法など大規模に準安定形を結晶化できる技術を開発し、これによって準安定形を選択的かつ多量に得られるようになった。個々の技術は組み合わせることが可能であり、対象とする物質の性質に応じて、所望の多形を得られる結晶化システムが構築できた。

形の選択的結晶化が実現したが、品質が

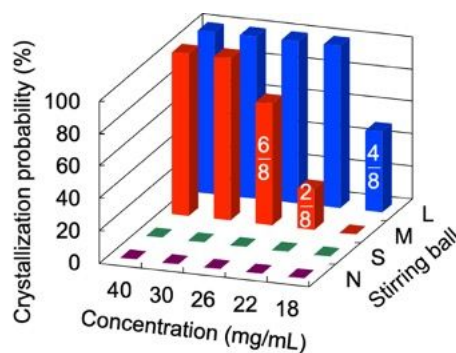


図 2 ガラス球と溶液濃度をパラメータとした結晶化確率。(Applied Physics Express 12(4): P.045503.より転載)

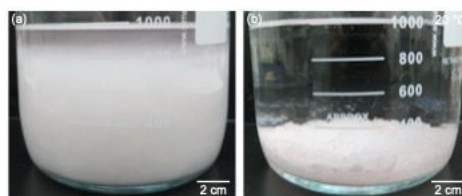


図 3 (a) ガラス球攪拌によって得られた三水和物結晶。(b) 形種結晶のシーディングによる相転移して得られた形結晶 (Applied Physics Express 12(4): P.045503.より転載)

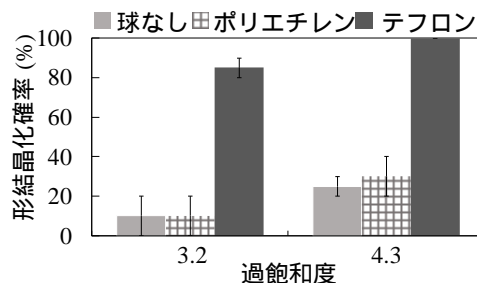


図 4 ポリマー球とアセトアミノフェン形の結晶化確率の関係。テフロン球により飛躍的に核形成確率が向上する。(未発表)

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Y. Tsurii, M. Maruyama, H. Y. Yoshikawa, S. Okada, H. Adachi, K. Takano, K. Tsukamoto, M. Imanishi, M. Yoshimura and Y. Mori	4. 巻 Vol.532
2. 論文標題 Intergrowth of two aspirin polymorphism observed with Raman spectroscopy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Crystal Growth	6. 最初と最後の頁 125430-1/6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) :10.1016/j.jcrysgr.2019.125430	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 D. Suzuki, S. Nakabayashi, H. Y. Yoshikawa	4. 巻 18(9)
2. 論文標題 Control of Organic Crystal Shape by Femtosecond Laser Ablation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Crystal Growth & Design	6. 最初と最後の頁 4829 ~ 4833
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.cgd.8b00697	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Y. Tsurii, M. Maruyama, R. Fujimoto, S. Okada, H. Adachi, H. Y. Yoshikawa, K. Takano, S. Murakami, H. Matsumura, T. Inoue, K. Tsukamoto, M. Imanishi, M. Yoshimura, and Y. Mori	4. 巻 Vol.12, No.1
2. 論文標題 Crystallization of aspirin form II by femtosecond laser irradiation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Applied Physics Express	6. 最初と最後の頁 015507-1 ~ 4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.7567/1882-0786/aaf419">https://doi.org/10.7567/1882-0786/aaf419</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 R. Fujimoto, M. Maruyama, S. Okada, H. Adachi, H. Y. Yoshikawa, K. Takano, M. Imanishi, K. Tsukamoto, M. Yoshimura and Y. Mori	4. 巻 Vol.12, No.4
2. 論文標題 Large-scale crystallization of acetaminophen trihydrate by a novel stirring technique	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Applied Physics Express	6. 最初と最後の頁 045503-1 ~ 5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7567/1882-0786/ab0666	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 K. Nii, M. Maruyama, S. Okada, H. Adachi, K. Takano, S. Murakami, H. Y. Yoshikawa, H. Matsumura, T. Inoue, M. Imanishi, K. Tsukamoto, M. Yoshimura, and Y. Mori	4. 巻 Vol.11
2. 論文標題 Improvement of metastable crystal of acetaminophen via control of crystal growth rate	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Applied Physics Express	6. 最初と最後の頁 035501-1~4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.7567/APEX.11.035501">https://doi.org/10.7567/APEX.11.035501</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

[学会発表] 計36件(うち招待講演 6件/うち国際学会 12件)

1. 発表者名 釣優香, 丸山美帆子, 吉川洋史, 安達宏昭, 高野和文, 塚本勝男, 今西正幸, 吉村政志, 森勇介
2. 発表標題 レーザー誘起結晶化技術におけるパルス時間幅の影響
3. 学会等名 第67回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 釣優香, 丸山美帆子, 吉川洋史, 池山潤, 岡田詩乃, 安達宏昭, 高野和文, 塚本勝男, 今西正幸, 吉村政志, 森勇介
2. 発表標題 レーザー照射による尿素結晶化のパルス時間幅依存性
3. 学会等名 第48回結晶成長国内会議(JCCG-48)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 稲岡奈々, 丸山美帆子, 釣優香, 澤田紘一, 久住翔太, 岡田詩乃, 安達宏昭, 吉川洋史, 高野和文, 塚本勝男, 今西正幸, 吉村政志, 森勇介
2. 発表標題 難水溶性化合物の多形制御に向けたポリマーアシスト超音波印加法の開発
3. 学会等名 第48回結晶成長国内会議(JCCG-48)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 丸山美帆子, 澤田紘一, 田中勇太郎, 岡田敦志, 安井孝周, 門馬綱一, 吉村政志, 森勇介
2. 発表標題 溶液媒介相転移が尿路結石形成に及ぼす影響
3. 学会等名 第48回結晶成長国内会議(JCCG-48)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西垣朱莉, 丸山美帆子, 沼田宗典, 田中俊一, 吉川洋史, 今西正幸, 吉村政志, 森勇介, 高野和文
2. 発表標題 マイクロ流路によるアセトアミノフェンの核発生促進
3. 学会等名 第48回結晶成長国内会議(JCCG-48)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 釣優香, 丸山美帆子, 吉川洋史, 岡田詩乃, 安達宏昭, 高野和文, 塚本勝男, 今西正幸, 吉村政志, 森勇介
2. 発表標題 医薬化合物アスピリンの成長過程における相転移のその場観察
3. 学会等名 第80回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Y. Tsuru, M. Maruyama, H.Y. Yoshikawa, S. Okada, H. Adachi, K. Takano, K. Tsukamoto, M. Imanishi, M. Yoshimura, Y. Mori
2. 発表標題 IN-SITU OBSERVATION OF PHASE TRANSITION OF ASPIRIN FORM II
3. 学会等名 19th International Conference on Crystal Growth and Epitaxy (ICCGE-19) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Y. Tsuru, M. Maruyama, S. Okada, H. Adachi, H. Yoshikawa, K. Takano, S. Murakami, H. Matsumura, T. Inoue, M. Imanishi, K. Tsukamoto, M. Yoshimura, and Y. Mori
2. 発表標題 LASER-INDUCED CRYSTALLIZATION OF METASTABLE PHASE OF PHARMACEUTICAL COMPOUND ASPIRIN
3. 学会等名 THE 10th INTERNATIONAL CONFERENCE ON PHOTONICS AND APPLICATIONS (ICPA-10) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 R. Fujimoto, Yo. Mori, M. Maruyama, S. Okada, H. Adachi, H. Yoshikawa, K. Takano, S. Murakami, H. Matsumura, T. Inoue, K. Tsukamoto, M. Yoshimura, Yu. Mori
2. 発表標題 Metastable crystallization of acetaminophen by stirring of the solution
3. 学会等名 International Symposium & School on Crystal Growth Fundamentals (ISSCGF2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤本吏輝, 丸山美帆子, 岡田詩乃, 安達宏昭, 吉川洋史, 高野和文, 村上聡, 松村浩由, 井上豪, 塚本勝男, 吉村政志, 森勇介
2. 発表標題 溶液攪拌による医薬化合物アセトアミノフェンの準安定形
3. 学会等名 第47回結晶成長国内会議
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 釣優香, 丸山美帆子, 藤本吏輝, 岡田詩乃, 安達宏昭, 吉川洋史, 高野和文, 村上聡, 松村浩由, 井上豪, 今西正幸, 塚本勝男, 吉村政志, 森勇介
2. 発表標題 レーザー誘起結晶化技術によるアスピリンの多形晶出と相移転のその場観察
3. 学会等名 第47回結晶成長国内会議
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 M. Maruyama, K. Nii, R. Fujimoto, Y. Tsurii, M. Yoshimura, Y. Mori
2. 発表標題 In-situ observation of skeletal growth and Solution inclusion formation: A model study using acetaminophen
3. 学会等名 XX MEETING OF THE INTERNATIONAL MINERALOGICAL ASSOCIATION(IMA 2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 丸山美帆子, 吉川洋史, 吉村政志, 森勇介
2. 発表標題 フェムト秒レーザーアブレーションで制御するタンパク質結晶の成長機構
3. 学会等名 日本化学会第98回春季年会(2018) (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 釣優香, 仁井滉允, 丸山美帆子, 岡田詩乃, 安達宏昭, 吉川洋史, 高野和文, 村上聡, 松村浩由, 井上豪, 塚本勝男, 吉村政志, 森勇介
2. 発表標題 フェムト秒レーザー誘起結晶化技術を用いた医薬化合物アスピリンの準安定形晶出
3. 学会等名 レーザー学会学術講演会 第38回年次大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉川洋史, 鈴木大希, 田村未央, Chi-Shiun Wu, 中林誠一郎
2. 発表標題 レーザーアブレーションによる有機結晶の形状制御
3. 学会等名 レーザー学会学術講演会 第38回年次大会
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 鈴木大希, 田村未央, 中林誠一郎, 吉川洋史
2. 発表標題 レーザーアブレーションによる有機結晶の成長制御法の開発
3. 学会等名 第46回結晶成長国内会議(JCCG-46)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 K. Nii, M. Maruyama, S. Okada, H. Adachi, K. Takano, S. Murakami, H. Yoshikawa, H. Matsumura, T. Inoue, K. Tsukamoto, M. Yoshimura, Y. Mori
2. 発表標題 Metastable crystal growth of pharmaceutical compound ibuprofen by using polymer induced hetero nucleation
3. 学会等名 The 7th Asian Conference on Crystal Growth and Crystal Technology(CGCT-7) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 鈴木大希, 中林誠一郎, 吉川洋史
2. 発表標題 レーザーアブレーションによる有機結晶成長の時空間制御 2 ~ レーザーエネルギー依存性 ~
3. 学会等名 第78回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 吉川 洋史
2. 発表標題 フェムト秒レーザーアブレーションによる有機結晶の成長制御
3. 学会等名 第78回応用物理学会秋季学術講演会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

## 〔図書〕 計4件

1. 著者名 丸山美帆子, 吉村政志, 森勇介	4. 発行年 2018年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 91
3. 書名 月間ファインケミカル, Vol.47, No.6	

1. 著者名 Mihoko Maruyama, Masashi Yoshimura, Kazufumi Takano, and Yusuke Mori	4. 発行年 2018年
2. 出版社 ACADEMIC PRESS	5. 総ページ数 324
3. 書名 KINETIC CONTROL IN SYNTHESIS AND SELF-ASSEMBLY	

1. 著者名 丸山美帆子, 吉川洋史	4. 発行年 2018年
2. 出版社 光化学協会	5. 総ページ数 72
3. 書名 光化学 49巻2号	

1. 著者名 丸山美帆子, 吉村政志, 高野和文, 森勇介	4. 発行年 2019年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 261
3. 書名 医薬品原薬の結晶化と物性評価: その最先端技術と評価の実際	

〔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
研究分担者	高野 和文  (TAKANO Kazufumi)  (40346185)	京都府立大学・生命環境科学研究科・教授    (24302)	
研究分担者	吉川 洋史  (YOSHIKAWA Hiroshi)  (50551173)	埼玉大学・理工学研究科・教授    (12401)	
研究協力者	丸山 美帆子  (MARUYAMA Mihoko)		