

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：12605

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K15072

研究課題名（和文）包接結晶粒子群の高純度化を実現する晶析プロセスの開発

研究課題名（英文）Development of crystallization conditions for obtaining crystalline particles of co-crystals with desired quality

研究代表者

甘利 俊太郎 (Amari, Shuntaro)

東京農工大学・工学（系）研究科（研究院）・助教

研究者番号：30837737

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：包接化に利用可能な環状分子（Cucurbit[7]uril: CB7）をモデル化合物として、多成分結晶粒子群の晶析条件と得られる固相の特性の関係を調査した。CB7と水から成るCB7水和物の場合、結晶化時の温度や溶媒（水）の量に応じて析出する固相が非晶質や結晶に変化することを見出した。さらに、非溶媒添加晶析にて析出する固相特性をXRDやDLSで分析した結果、非溶媒の添加比率が10%以下では結晶特有の明確なピークや粒子成長が観察され、相図上にてCB7水和物が結晶粒子群として析出する領域を見出した。以上より、多成分結晶の一つであるCB7水和物を結晶粒子群として製造するための晶析条件を獲得した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CB7のように複数の分子から構成される多成分結晶の場合でも、目的成分を含む多成分相図を作成し、結晶化学の観点から相図に基づいて晶析条件を検討することによって、溶液中から目的の多成分結晶粒子群を安定的に析出させることが可能であることを実験的に示すことができました。また、比較的水に対する溶解性が高いCB7の分離精製に関する知見は、医薬品分野での包接化による有効成分の溶解性改善をはじめとした、CB7を用いた新たな材料創製に関する研究開発に貢献できると考えられます。

研究成果の概要（英文）：The relationship between operation conditions of crystallization and solid phase properties for multicomponent crystal was investigated using cucurbit[7]uril (CB7) which is available for inclusion compound as a model compound.

In the case of CB7 hydrate, which is composed of CB7 and water, we found that the solid phase depends on the temperature and amount of solvent (water) during the crystallization. Furthermore, the solid phase which is precipitated by anti-solvent crystallization was characterized by XRD and DSC. As a result, specific clear peaks derived from the crystal and particle growth were observed when the mixing ratio of anti-solvent was less than 10%. This means that a region where CB7 hydrate was precipitated as the crystalline particles was found on the phase diagram of CB7. These results indicate that crystallization conditions were obtained to produce CB7 hydrate, which is one of the multicomponent crystals, as the crystalline particles.

研究分野：晶析

キーワード：多成分結晶 包接化合物 水和物 多成分相図

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

複数の分子から構成される多成分結晶は、単一成分の結晶ではみられない物性や機能を発現するため、医薬品や光学デバイス用の新規材料として期待されている^{1,2}。例えば、環状分子によって形成される包接化合物の結晶(包接結晶)は、特異な化学的物性を示すことが先行研究によって明らかになっている⁴。包接結晶をはじめ、多成分結晶に関する先行研究の多くは、結晶を構成する分子構造や結晶が示す化学的性質を報告している^{5,6}。しかし、工業的な製造に向け、包接結晶粒子群のような多成分結晶の品質を考慮した晶析操作法は十分に検討されていない。多成分結晶の場合、複数の分子が存在する液相から、特定の比率で結晶化させる必要がある。したがって、高品質な多成分結晶粒子群を得るためには、単一成分の結晶の場合に比べ、厳密な晶析操作の設計が求められる。

多成分結晶の粒子群特性と晶析操作の関係を検討する上で、本研究では、大環状分子である Cucurbit[7]uril (CB7)⁷ に着目した (Figure 1)。CB7 は環状構造内に様々な分子をゲスト分子として取り込み、包接化合物を形成する。また、CB7 は比較的高い水への溶解性を有するため、CB7 によって形成されたゲスト分子を含む包接化合物の溶解性は向上する。そのため、医薬品分野では、生物学的利用能の観点から、CB7 による包接化は有効成分の溶解性改善する解決方法の一つとして期待されている⁸。

一方、研究開始時の初期検討により、CB7 を含む水溶液から析出させた固相はアモルファスであり、CB7 を水溶液中から結晶粒子群として分離・精製することが困難であることが明らかになってきた。これは、CB7 が水分子と共に多成分の固相として析出することに起因していると推定される^{9,10}。そこで、多成分結晶の一つである CB7 と水から成る CB7 水和物の結晶化条件を検討することで、包接化合物を含めた多成分結晶を粒子群として獲得するための晶析プロセスを設計する上で必要な基礎的知見を見出せると考えた。

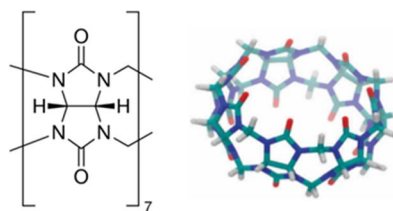


Figure 1 Structure formulas of CB7³.

2. 研究の目的

本研究では、包接化合物を形成する大環状分子で、溶媒分子と共に固化する性質を有する CB7 の結晶化現象を例に、多成分結晶粒子群の晶析条件と得られる固相特性との関係を説明し、CB7 を安定的に分離、精製可能な操作条件を見出すことを目指した。

3. 研究の方法

(1) 蒸発晶析による結晶化条件の探索

CB7 水和物の結晶粒子群が得られる条件を検討するため、30 の CB7 飽和水溶液を調製し、所定の温度で加熱し、蒸発晶析を行った。蒸発晶析中の溶液を分取し、吸引濾過により固液分離を行い、得られた粒子群を観察した。

(2) 非溶媒添加晶析による結晶化条件の探索

医薬品分野で多用されている非溶媒添加晶析を利用し、CB7 水和物の結晶化条件を検討した。実験系は、CB7 (溶質) - 水 (良溶媒) - イソプロパノール (IPA, 非溶媒) である。溶液は全て 30°C で調製した。

三成分相図の作成

非溶媒添加晶析で得られる結晶は、混合比によって固相特性 (形態) が大きく変化することが知られている。そこで、CB7 の結晶化現象を検討する上で、実験系である三成分相図の作成を試みた。そこで、水と IPA を任意の比率で混合した溶液に CB7 を添加し、蒸発乾固法により核溶媒組成に対する CB7 の溶解度を測定した。

非溶媒の混合比率の影響

CB7 飽和水溶液と非溶媒である IPA の混合比を変更して非溶媒添加晶析を行った。30°C の CB7 飽和水溶液が入ったサンプル瓶に、非溶媒の IPA をマイクロピペットで添加した。添加後すぐに手でサンプル管を約 20 秒間振とうし、静置した。CB7 飽和水溶液と IPA の混合比と、溶液量を Table 1 に示した。得られた結晶粒子群は吸引ろ過で回収し、真空乾燥後、固相の形態を SEM で観察した。

Table 1 Mixing ratio between CB7 saturated aqueous solution and IPA.

Run	CB7 saturated aqueous solution : IPA	CB7 saturated aqueous solution [g]	IPA [g]
1	9.5 : 0.5	0.95	0.050
2	9 : 1	9.0	1.0
3	8 : 2	0.80	0.20
4	7 : 3	0.70	0.30
5	5 : 5	5.0	5.0
6	1 : 9	1.0	9.0

4. 研究成果

(1) 晶析中の温度と溶媒の減少速度の影響

蒸発晶析にて、晶析時の温度が室温および 50°C の場合では、面のない粒子群が得られ、溶媒（水）が全て蒸発すると膜状の固体が得られた。X 線解析法（XRD）で測定した結果、ブロードなピークが検出されたことから、得られた固体は非晶質であると考えられる（Figure 2a）。一方、90°C で蒸発晶析を行った場合、溶媒の減少速度が速い時に得られた固体は非晶質であったが、飽和溶液が入ったビーカーにフタをして蒸発に伴う溶媒の減少速度を抑えたところ、面のある粒子群が析出した。得られた粒子群を XRD で測定した結果、明確なピークが検出された（Figure 2b）。したがって、CB7 の結晶化には、温度と溶媒（水分子）量が強く影響していることが明らかになった。

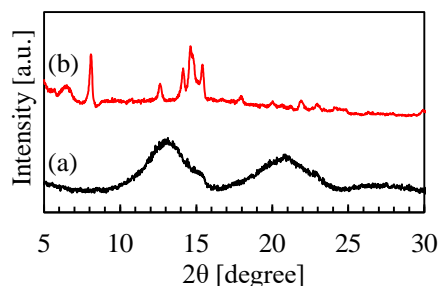


Figure 2 XRD spectra of CB7 particles obtained by evaporative crystallization under (a) room temperature and (b) 90°C.

(2) 固液分離時の溶媒除去速度の影響

溶媒量が CB7 の結晶化に影響しているとすれば、溶媒を除去する固液分離操作も結晶化に関与している可能性がある。そこで、室温下で蒸発晶析を行い、様々な溶媒除去速度で固液分離を行った。その結果、固液分離時の吸引強度が低い時には、結晶が溶けたような様子がみられた。一方、吸引強度が高い場合、面のある結晶が観察された（Figure 3）。したがって、結晶構造を維持したまま溶液中の結晶粒子群を得るためには、固液分離時の溶媒除去速度も重要であることがわかった。

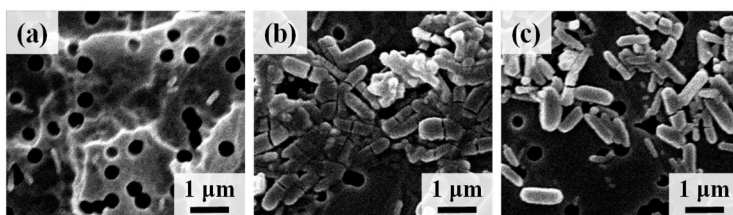


Figure 3 SEM images of CB7 particles obtained by various suction strengths: (a) 0 kPa, (b) 240 kPa and (c) 360 kPa.

以上より、CB7 の結晶化には、晶析中の温度が高く、固液分離時の溶媒除去速度が速いほうが、有利であることが明らかになった。そこで、蒸発晶析中の温度を 90°C に設定し、固液分離時の溶媒の除去速度を上げた結果、明確な面をもつ結晶粒子群が得られた（Figure 4）。

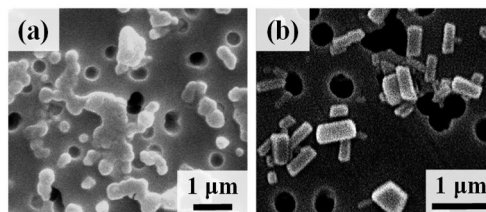


Figure 4 SEM images of obtained CB7 particles (a) without and (b) with designed operation.

(3) CB7 を含む三成分相図

蒸発乾固法により、水と IPA の混合溶媒に対する溶解度を測定した結果を Figure 5 に示す。Figure 5 より、CB7 の溶解度は IPA の比率が増加するにつれて、単調に減少する傾向を示すことがわかった。

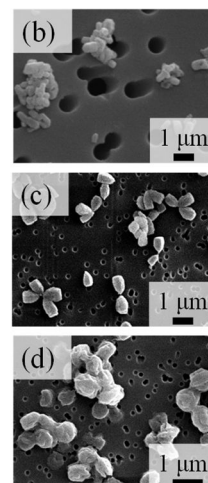
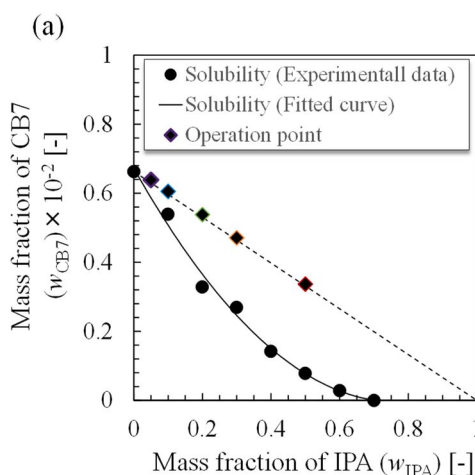


Figure 5 (a) CB7-water-IPA ternary phase diagram at 30°C. SEM images of precipitates obtained by anti-solvent crystallization. (CB7 sat. aq. solution : IPA = (b) 9.5 : 0.5, (c) 9 : 1, and (d) 5 : 5).

(4) 固相特性に対する混合比の影響

非溶媒添加晶析の混合比を変更した結果得られた固相を SEM で観察したところ、様々な形態の固相が得られたことがわかった（Figure 5b-d）。この固相特性の変化は、非溶媒添加時に生じる過飽和 ΔC の差による可能性があると考えられる。

(5) 固相特性に対する過飽和の影響

非溶媒添加晶析にて過飽和 C が CB7 の結晶化に及ぼす影響を検討した。具体的には、相図上にて、混合比はアモルファスのような固相が析出した条件 (CB7 飽和水溶液: IPA = 5 : 5) と同一であるが、過飽和 ΔC は明確な面をもつ固相が析出した条件 (CB7 水溶液: IPA = 9 : 1) で非溶媒添加晶析を行った。Figure 6 に得られた固相を SEM で観察した結果を示す。Figure 6 より、面の無い非晶質の粒子が得られた。また、Figure 5c と比較することで、析出する固相の形態は過飽和 ΔC によって決定されるわけではないことが分かった。

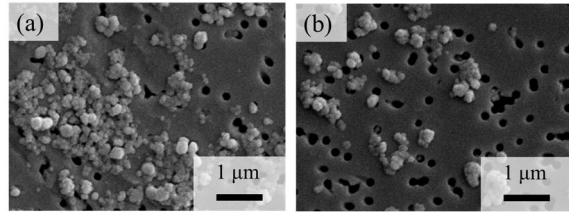


Figure 6 SEM image of CB7 solid phase. (a) 130 min, (b) 390 min after addition of anti-solvent.

(6) 溶液の逆添加が固相特性に与える影響

非溶媒添加晶析では、溶媒を添加する順番によって析出する結晶の特性が変化する場合がある。そこで、本研究でも逆添加を実施し、固相特性への影響を調べた。具体的には、Figure 7 より、CB7 飽和水溶液と IPA の混合順序に寄らず、面の無い非晶質が析出した。このとき、CB7 水溶液: IPA = 9 : 1 の混合比では、順添加で面のある結晶が得られたが、逆添加では非晶質しか得られなかった。

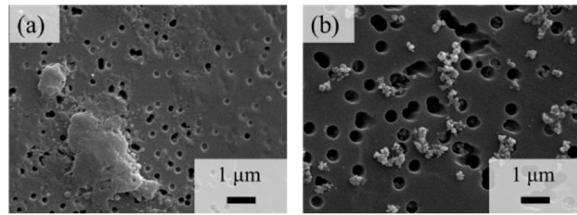


Figure 7 SEM image of CB7 solid phase. CB7 saturated aqueous solution : IPA = (a) 9 : 1 and (b) 5 : 5.

4.4. ~ 4.6 の結果から、非溶媒添加晶析で析出する CB7 水和物の固相の特性は、三成分相図上に表現される操作点 (見かけの組成) が、相図上のどの領域に存在するかに依存している可能性がある (Figure 8)。CB7 - 水 - IPA の三成分相図に、非晶質と結晶両方の溶解度曲線が存在しているとすれば、操作線は非晶質の溶解度曲線と交差する。それゆえ、混合溶媒の Anti-solvent 比利率が高い領域では、操作点が非晶質の溶解度曲線を越えているため、非晶質が析出する。このように過飽和 ΔC が同じでも、析出する固相が結晶であるか否かは液相組成に依存する。また、混合比が同じでも、相図上の組成の動きが異なれば、先に析出する固相の特性が異なると推測した。

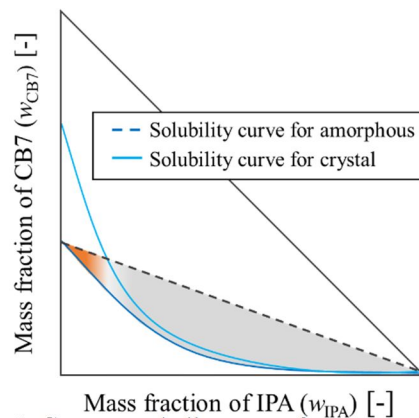


Figure 8 Conceptual diagram of ternary phase diagram including the solubility curve of amorphous for CB7-Water-IPA.

(7) 固相特性のキャラクタリゼーション

非溶媒添加晶析の混合比によって大きく異なる固相特性について、三成分相図の領域によって整理可能であると考えた。そこで、三成分相図の領域ごとに析出する固相の特性を調査した。具体的には、Table 1 の Run 1 ~ 5 に示す混合比で非溶媒添加晶析を行って固相を回収し、XRD で測定した (Figure 9)。Figure 9 より、液相中の CB7 飽和水溶液の割合が 90% 以上の条件でのみ明確なピークが存在した。したがって、CB7 飽和水溶液の割合が 90% 以上でのみ CB7 水和物の結晶粒子群が析出していることが示唆された。

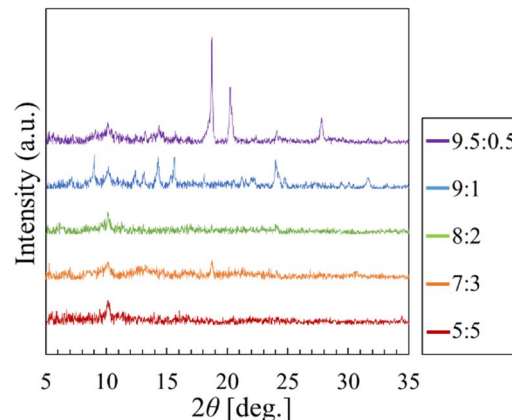


Figure 9 Effect of mixing ratio of CB7 saturated aqueous solution and IPA on XRD spectra.

次に、動的光散乱法 (DLS) を用いて、非溶媒添加後の時間経過に伴う粒子群の成長挙動を観察した (Figure 11)。その結果、液相中の CB7 飽和水溶液の割合が 90% 以上の条件でのみ時間経過とともに粒子群の成長がみられた。粒子の成長は、結晶特有の性質である。したがって、XRD と DLS の測定結果より、液相中の CB7 飽和水溶液の割合が 90% 以上の条件でのみ結晶が得られることがわかった。

以上の結果から、水分子と共に固化する性質を有する CB7 の結晶粒子群を得るために、結晶化の段階では温度と溶媒量が影響し、固液分離時には溶媒除去速度が重要であることが明らかになった。さらに、非溶媒添加晶析にて CB7 の結晶粒子群を安定的に得るための操作指針を検討した。その結果、溶液の混合比や添加方法によって、析出する固相特性は劇的に変化することが分かった。そこで、晶析条件と固相の特性を三成分相図で整理したところ、面のある結晶粒子群が得られる操作条件を見出すことができた。

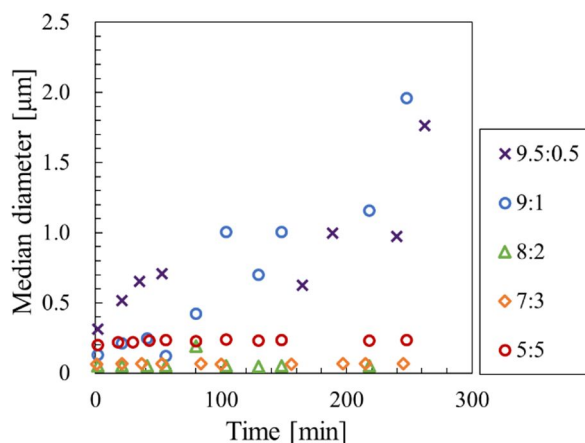


Figure 10 Effect of mixing ratio of CB7 saturated aqueous solution and IPA on median diameter measured by DLS.

参考文献

1. A. D. Bond, *CrystEngComm*, 2007, **9**, 833-834.
2. L. Mazur, I. Materek, A. D. Bond and W. Jones, *Cryst. Growth Des.*, 2019, **19**, 2663-2678.
3. K. I. Assaf and W. M. Nau, *Chem Soc Rev*, 2015, **44**, 394-418.
4. P. Vishweshwar, J. A. McMahon, J. A. Bis and M. J. Zaworotko, *J. Pharm. Sci.*, 2006, **95**, 499-516.
5. J. Lombard, L. Loots, T. Le Roex and D. A. Haynes, *CrystEngComm*, 2018, **20**, 25-34.
6. P. K. Goswami, R. Thaimattam and A. Ramanan, *Cryst. Growth Des.*, 2016, **16**, 1268-1281.
7. S. J. Barrow, S. Kaser, M. J. Rowland, J. del Barrio and O. A. Scherman, *Chem. Rev.*, 2015, **115**, 12320-12406.
8. K. I. Kuok, S. K. Li, I. W. Wyman and R. B. Wang, *Ann Ny Acad Sci*, 2017, **1398**, 108-119.
9. D. Bardelang, K. A. Udachin, D. M. Leek, J. C. Margeson, G. Chan, C. I. Ratcliffe and J. A. Ripmeestert, *Cryst. Growth Des.*, 2011, **11**, 5598-5614.
10. J. Lagona, P. Mukhopadhyay, S. Chakrabarti and L. Isaacs, *Angew Chem Int Ed Engl*, 2005, **44**, 4844-4870.

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 Amari Shuntaro, Sugawara Chinami, Kudo Shoji, Takiyama Hiroshi	4. 巻 7
2. 論文標題 Investigation of Operation Strategy Based on Solution pH for Improving the Crystal Quality Formed during Reactive Crystallization of L-Aspartic Acid	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 2989 ~ 2995
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsomega.1c06015	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3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 甘利 俊太郎・清水 梨愛・滝山 博志
2. 発表標題 Cucurbit[7]uril水和物結晶の安定製造に向けた晶析操作と固液分離条件の検討
3. 学会等名 化学工学会第51回秋季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 清水 梨愛・甘利 俊太郎・滝山 博志
2. 発表標題 Cucurbit[7]urilの溶媒和物を対象とした晶析条件検討と特性評価
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 甘利 俊太郎・清水 梨愛・滝山 博志
2. 発表標題 大環状分子Cucurbit[7]urilの溶媒和物を対象とした晶析条件と粒子群特性の関係
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
---------	---------