

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 2 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K14942

研究課題名(和文) 薬剤有機分子の結晶多形完全制御技術

研究課題名(英文) Polymorph control of pharmaceutical compounds

研究代表者

吉村 政志 (YOSHIMURA, MASASHI)

大阪大学・レーザーエネルギー学研究中心・教授

研究者番号：60314382

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：代表的な医薬化合物である解熱鎮痛薬のアセトアミノフェンをモデル材料として、超音波誘起結晶化技術により準安定相Ⅱ形の選択晶出を報告していた。本研究ではこのⅡ形微結晶を種子結晶として利用し、徐冷法による低速成長によって結晶内部の欠陥が大幅に低減することを明らかにした。また、ポリマー誘起核発生を用いて、Ⅱ形よりも高溶解性の三水和物の結晶化に成功し、三水和物からの溶液媒介相転移を通じたⅡ形育成技術を開発した。いずれの方法においても、従来よりも高品質で経時安定性に優れた準安定形を選択的に作製できることを実証した。

研究成果の概要(英文)： We have developed an original method for selective crystallization of metastable phase acetaminophen form II by applied ultrasonic irradiation. In this research, we attempted to control the crystallinity in order to improve temporal stability of form II. We found that crystals of form II grown at low growth rate have high transparency and fewer defects. Powder X-ray diffraction measurement reveals that form II grown at low growth rate shows higher temporal stability than seed crystals nucleated by ultrasonic irradiation. We have also developed a new method of obtaining the metastable phase form II crystals of acetaminophen. Solution-mediated phase transformation (SMPT) from trihydrate into form II is utilized to obtain form II crystals. SMPT is triggered by seeding form II crystals into a saturated solution including trihydrate crystals, which are less stable than form II crystals.

研究分野：結晶工学

キーワード： 薬剤有機分子 アセトアミノフェン 準安定形選択晶出 ソノクリスタリゼーション ポリマー誘起核発生 溶液媒介相転移

1. 研究開始当初の背景

薬剤候補化合物の多くが結晶多形を有しており、スクリーニングを通して最適結晶形(主に最安定形)が探索されている。溶解度が高い準安定形は医薬品として生物学的利用能(bioavailability)に優れているが、製剤工程及び保存時に安定形へ転移することが課題とされている。一般に、準安定形は溶液を急冷して高過飽和状態に移行させ、オストワルドの段階則に従い初相として現れる準安定形を速やかに単離する事例が多い。準安定形は安定形と競争的核生成が進む過飽和溶液中で晶出するため、僅かな安定形の核生成によって準安定相の溶解と安定相の成長が雪崩的に進むことが転移の原因となっている(溶媒媒介転移)。そのため、結晶多形の高度な選択成長技術によって、経時安定性に優れた準安定結晶の実現が期待されている。また、準安定結晶は当該分野の医薬品に限らず、食品科学やファインケミカル工業等、多形を取り扱う多くの分野への展開も期待されている。

2. 研究の目的

研究代表者らはクラスター状態(溶解状態)を厳密に制御することで、溶液を徐冷してもいずれの結晶核も生成しない高過飽和溶液状態を実現した上で、外部から物理的刺激(フェムト秒レーザー照射、超音波印加等)を加えると、アセトアミノフェンやインドメタシンの準安定形が選択的に晶出することを明らかにしていた。晶出したアセトアミノフェンの準安定形(Ⅱ形)は溶液内で相転移することなく、1年以上準安定相を保ち続けているが、溶液から取り出して粉末状にした試料は加速試験環境下で容易に安定形(Ⅰ形)に変わることが課題となっていた。そこで本研究では、アセトアミノフェンをモデル化合物として、加速試験下で長期的に安定な準安定形を実現することを目的とした。また、上述の物理的刺激で得られる準安定形結晶は少量であり、原理実証の点では新しい知見であるが、実用的ではなかった。そこで、本研究では晶出量の制約を受けない新しい結晶化技術の開発も試みた。最後に、上記以外の薬剤候補化合物の準安定形晶出にも取り組んだ。

3. 研究の方法

本研究は図1に示す解熱鎮痛薬アセトアミノフェン分子の準安定形結晶(Ⅱ形、斜方晶系)選択晶出技術の開発に取り組んだ。

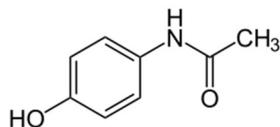


図1 アセトアミノフェン分子。

安定形(Ⅰ形、単斜晶系)の精製原料を超純水溶媒に溶解させ、高温で濾過した後にガラス

製バイアル瓶に分注して所定の温度まで徐冷し、過飽和状態の溶液を準備する。次に、図2に示すように超音波洗浄機にバイアル瓶を入れ、溶液に超音波を断続的に印加することで、結晶核発生を促し、特定条件下で右に示すような準安定結晶(Ⅱ形)が得られる。

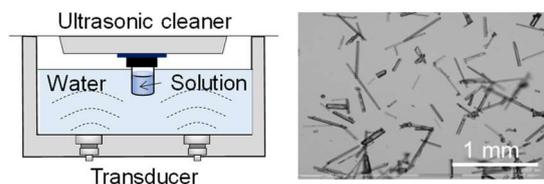


図2 超音波印加結晶育成の装置概要と得られたアセトアミノフェン準安定結晶。

晶出した結晶は粉末状に粉碎し、粉末X線回折(PXRD)を用いて、結晶相の同定を行った。さらに、密閉容器内に入れて、温度40℃、湿度80%の加速条件環境のインキュベータ内に試料を保管し、定期的にPXRD測定を繰り返すことで、準安定形から安定形への経時変化を調査した。

図2の超音波印加による結晶化では、準安定形を晶出させるために高過飽和条件を必要とするため、核発生後に急成長し、内部に溶液インクルージョン等の結晶欠陥を含む低品質結晶が得られる場合が多かった。そこで本研究では、超音波印加によって得られたⅡ形結晶を種子結晶として利用し、溶液徐冷法にて低速成長を試み、結晶の高品質化と経時安定性向上を検証した。また、一連の研究の中で、特定の固体バルクポリマーを溶液に加えると、高溶解性の三水和物結晶が晶出することが明らかになった。先行研究と異なり、溶液中では長期間安定に存在するため、この三水和物を用いて、図3に示す溶液媒介相転移を使った新しいⅡ形結晶作製にも取り組んだ。なお、超音波印加で得られたⅡ形結晶を種子結晶に用い、二次核発生や相転移を意図的に促すことが本研究の特徴である。

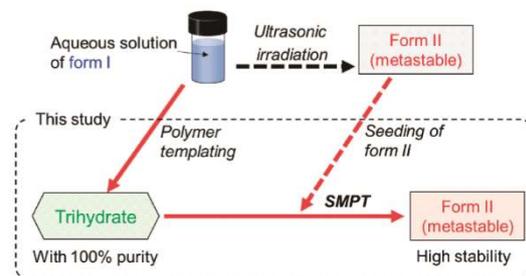


図3 溶液媒介相転移を用いたⅡ形晶出法。

4. 研究成果

(1) 超音波印加によって得た微結晶を含む少量のⅡ形飽和溶液を作製し、別に用意した低過飽和のアセトアミノフェン水溶液に微結晶を滴下(シーディング)して、徐冷法を使って準安定形の結晶化を試みた。様々な条件を検討した結果、冷却速度0.5℃/hの条件で低

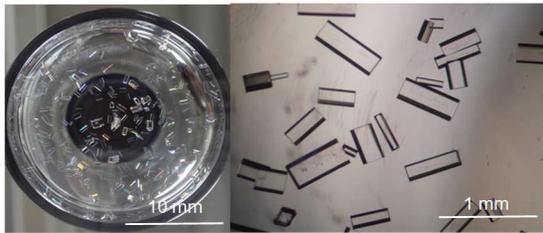


図4 徐冷法を用いて得られたII形結晶.

速成長が実現し、図4に示す透明で高品質な結晶作製に成功した。種子結晶を起点に大きく成長した結晶では結晶欠陥が入りやすいことが明らかになり、図4の条件では、滴下結晶の微小化を行っている。図5は2種類のシーディング条件で得られたII形結晶をc軸長で分布を調べた結果を示す。青色のデータが通常の種結晶を用いた場合で、結晶数26個の分布を示している。長さ4mm以上の結晶では欠陥が含まれる場合が多かった。一方、赤色のデータは滴下後の低過飽和溶液に超音波を印加したもので、平均サイズ0.4mm(c軸長さ)で大きさの揃った高品質II形結晶を得ることに成功した。データは、結晶数248個の分布状況を示している。

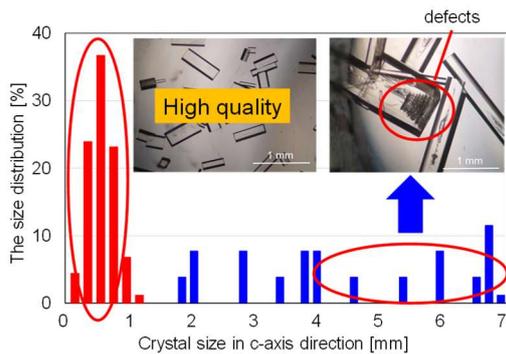


図5 徐冷法で得られたII形結晶の長さ分布.

本手法は滴下した種子結晶からの二次核発生によって結晶が成長しており、従来の超音波印加法で課題となっていた溶液量の制限を受けないことが特徴である。実際に、上記の条件に加えて、成長中の容器に加減速容器回転攪拌(ACRT: Accelerated Crucible Rotation Technique)を導入することで、10倍の溶液量で同様な結果を得ることに成功している。

粉末にした試料の加速劣化試験を行い、PXRDにて安定形への転移を調査したところ、超音波印加法で得られた結晶が平均1日程度で完全に転移するのに対し、10日以上II形を維持することが明らかになった。結晶品質の向上によって、安定形への転移の経時安定性が大きく向上したと言える。

(2) アセトアミノフェンの過飽和水溶液に特定のポリマー材を入れることで、図6に示すようにポリマー界面から結晶が晶出し、後の解析でII形よりも準安定な三水和物が得られていることが明らかになった。この三水和

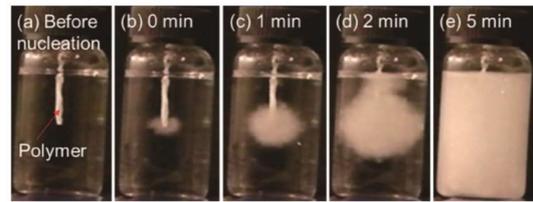


図6 ポリマーを用いた三水和物の結晶化の様子.

物はII形より溶解度が高く、水溶液中で安定であるが、溶液から取り出すと脱水反応に伴い安定形のI形に転移することが確認された。そこで、本研究では三水和物飽和溶液からII形準安定形結晶を晶出させる新しい手法に取り組んだ(図3)。具体的には、飽和状態となった三水和物晶出溶液(20°C)に対し、超音波印加法で出られた微結晶を含む少量の飽和溶液を滴下した(図7)。溶解度が低いII形結晶にとっては過飽和溶液であるため、II形結晶は成長し、それに伴って周囲の高溶解性三水和物結晶が溶解するというプロセスが生じる。最終的に全ての三水和物が溶解し、II形結晶のみが溶液中に存在する状況となる(溶液媒介相転移)。本手法は温度によって溶解度に違いが見られることを利用すれば、準安定形の成長速度が制御できるため、高品質が見込める他、大容量溶液にも展開できることを確認している。

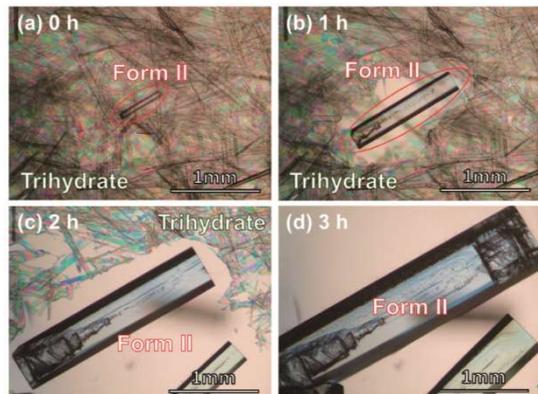


図7 溶液媒介相転移を通したII形結晶成長.

図8は粉末にした試料の加速劣化試験を行い、PXRDにて安定形への転移を調査した結果である。比較に用いた超音波印加で得られた結晶は24時間程度でI形への転移が始まるのに対し、本手法で得られた結晶は準安定を長く

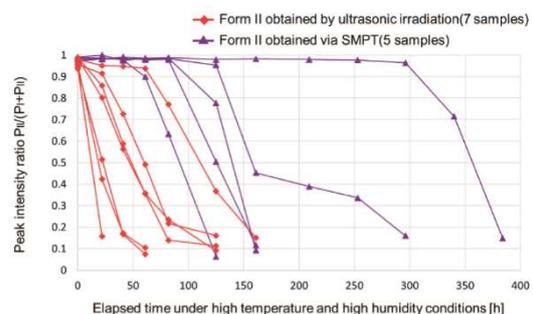


図8 II形結晶の経時安定性試験結果.

維持し、300時間維持するものも確認できた。

(1)の検討と同様に、低駆動力条件で低速成長させると結晶の品質が向上し、経時安定性がさらに改善することが確認できている。そのため、研究開始当初の課題が克服できる、アセトアミノフェンII形結晶の新しい製造方法と言える。

(3)アセトアミノフェンに加え、イブプロフェン融液からの準安定形II形結晶、アセトニトリル溶液からのアスピリン結晶の準安定形II形結晶の晶出にも成功した。一方、それぞれ安定形への転移も確認されており、アセトアミノフェンの先行研究で培った完全選択晶出条件、低速成長条件を確立することで、経時安定性に優れた高品質結晶実現につながると期待できる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

1. Yo. Mori, M. Maruyama, Y. Takahashi, H. Y. Yoshikawa, S. Okada, H. Adachi, S. Sugiyama, K. Takano, S. Murakami, H. Matsumura, T. Inoue, M. Yoshimura, and Yu. Mori, Crystallization of acetaminophen form II by plastic-ball-assisted ultrasonic irradiation, *Applied Physics Express*, Vol.10, No.2, pp.025501-1-4, 2017.1, 査読有。
<https://doi.org/10.7567/APEX.10.025501>

2. Yo. Mori, M. Maruyama, Y. Takahashi, H. Y. Yoshikawa, S. Okada, H. Adachi, S. Sugiyama, K. Takano, S. Murakami, H. Matsumura, T. Inoue, M. Yoshimura, and Yu. Mori, Metastable crystal growth of acetaminophen using solution-mediated phase transformation, *Applied Physics Express*, Vol.10, No.1, pp.015501-1-4, 2016.12, 査読有。
<https://doi.org/10.7567/APEX.10.015501>

3. Yo. Mori, M. Maruyama, Y. Takahashi, K. Ikeda, S. Fukukita, H. Y. Yoshikawa, S. Okada, H. Adachi, S. Sugiyama, K. Takano, S. Murakami, H. Matsumura, T. Inoue, M. Yoshimura, and Y. Mori, Selective crystallization of metastable phase of acetaminophen by ultrasonic irradiation, *Applied Physics Express*, Vol.8, No.6, pp.065501-1-4, 2015.5, 査読有。
<http://iopscience.iop.org/article/10.7567/APEX.8.065501/meta>

[学会発表] (計 14 件)

1. 藤本吏輝, 森陽一郎, 高橋義典, 丸山美帆子, 吉川洋史, 岡田詩乃, 安達宏昭, 杉山成, 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, 溶液媒介相転移による医薬化合物アセトアミノフェンの準安定形成長 (II), 第64回応用物理学会春季学術講演会, 2017.3.14, パシフィコ横浜 (神奈川・横浜市).

2. K. Nii, M. Maruyama, Y. Takahashi, H. Yoshikawa, S. Okada, H. Adachi, S. Sugiyama, K. Takano, S. Murakami, H. Matsumura, T. Inoue, K. Tsukamoto, M. Yoshimura, and Yu. Mori, Metastable crystal growth of acetaminophen in low supersaturated solution, The 5th China-Japan Symposium on Crystal Growth and Crystal Technology, 2016.11.21, Fuzhou (China).

3. R. Fujimoto, Yo. Mori, Y. Takahashi, M. Maruyama, H. Yoshikawa, S. Okada, H. Adachi, S. Sugiyama, K. Takano, S. Murakami, H. Matsumura, T. Inoue, K. Tsukamoto, M. Yoshimura, Yu. Mori, Metastable crystal growth of acetaminophen using solvent-mediated phase transformation, The 5th China-Japan Symposium on Crystal Growth and Crystal Technology, 2016.11.21, Fuzhou (China).

4. 藤原慎, 森陽一郎, 高橋義典, 丸山美帆子, 吉川洋史, 岡田詩乃, 安達宏昭, 杉山成, 高野和文, 村上聡, 松村浩由, 井上豪, 吉村政志, 森勇介, 超音波結晶化法におけるアセトアミノフェンII形結晶の経時安定性向上, 第77回応用物理学会秋季学術講演会, 2016.9.15, 朱鷺メッセ (新潟・新潟市).

5. 仁井滉允, 森陽一郎, 高橋義典, 丸山美帆子, 吉川洋史, 岡田詩乃, 安達宏昭, 杉山成, 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, 徐冷法を用いた医薬化合物アセトアミノフェンの準安定形成長, 第77回応用物理学会秋季学術講演会, 2016.9.14, 朱鷺メッセ (新潟・新潟市).

6. 藤本吏輝, 森陽一郎, 高橋義典, 丸山美帆子, 吉川洋史, 岡田詩乃, 安達宏昭, 杉山成, 高野和文, 村上聡, 松村浩由, 井上豪, 吉村政志, 森勇介, 溶液媒介相転移による医薬化合物アセトアミノフェンの準安定形成長, 第77回応用物理学会秋季学術講演会, 2016.9.14, 朱鷺メッセ (新潟・新潟市).

7. Yo. Mori, M. Maruyama, Y. Takahashi, H. Yoshikawa, S. Okada, H. Adachi, S. Sugiyama, K. Takano, S. Murakami, H. Matsumura, T. Inoue, K. Tsukamoto, M. Yoshimura, Yu. Mori, Growth of

acetaminophen form II by using solvent-mediated phase transformation, The 18th International Conference on Crystal Growth and Epitaxy (ICCGE-18), 2016. 8. 11, Nagoya Congress Center (Aichi · Nagoya).

8. K. Nii, M. Maruyama, Y. Takahashi, H. Yoshikawa, S. Okada, H. Adachi, S. Sugiyama, K. Takano, S. Murakami, H. Matsumura, T. Inoue, K. Tsukamoto, M. Yoshimura, Y. Mori, Temporal stability Improvement of the metastable phase of acetaminophen using low supersaturated solution growth, The 18th International Conference on Crystal Growth and Epitaxy (ICCGE-18), 2016. 8. 9, Nagoya Congress Center (Aichi · Nagoya).

9. 藤原慎, 森陽一郎, 高橋義典, 丸山美帆子, 岡田詩乃, 安達宏昭, 吉村政志, 森勇介, 超音波結晶化法におけるアセトアミノフェンII形結晶の経時安定性向上, 日本薬剤学会第31年会, 2016. 5. 19, 長良川国際会議場(岐阜・岐阜市).

10. 仁井滉允, 森陽一郎, 高橋義典, 丸山美帆子, 岡田詩乃, 安達宏昭, 吉村政志, 森勇介, 低過飽和育成によるアセトアミノフェンII形結晶の経時安定性向上, 日本薬剤学会第31年会, 2016. 5. 19, 長良川国際会議場(岐阜・岐阜市).

11. 森陽一郎, 高橋義典, 丸山美帆子, 岡田詩乃, 安達宏昭, 吉村政志, 森勇介, 溶媒媒介相転移を用いたアセトアミノフェンII形の結晶化, 日本薬剤学会第31年会, 2016. 5. 19, 長良川国際会議場(岐阜・岐阜市).

12. 福喜多俊, 丸山美帆子, 森陽一郎, 高橋義典, 吉川洋史, 岡田詩乃, 安達宏昭, 杉山成, 高野和文, 村上聡, 松村浩由, 井上豪, 吉村政志, 森勇介, 超音波印加で得たアセトアミノフェンII形の安定性に及ぼす過飽和度の影響, 第45回結晶成長国内会議(NCCG-45), 2015. 10. 19, 北海道大学学術交流会館(北海道・札幌市).

13. 森陽一郎, 丸山美帆子, 高橋義典, 吉川洋史, 岡田詩乃, 安達宏昭, 杉山成, 高野和文, 村上聡, 松村浩由, 井上豪, 吉村政志, 森勇介, 医薬化合物アセトアミノフェンの結晶多形制御, 第39回結晶成長討論会, 2015. 9. 24, 同志社びわこリトリートセンター(滋賀・大津市).

14. Yo. Mori, M. Maruyama, Y. Takahashi, H. Yoshikawa, S. Okada, H. Adachi, S. Sugiyama, K. Takano, S. Murakami, H. Matsumura, T. Inoue, M. Yoshimura, and Yu.

Mori, Selective crystallization of acetaminophen polymorph with high solubility, 20th American Conference on Crystal Growth and Epitaxy (ACCGE-20), 2015. 8. 3, Big Sky(USA).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉村 政志 (YOSHIMURA Masashi)
大阪大学・レーザー科学研究所・教授
研究者番号：60314382

(2) 研究分担者

高橋 晋 (TAKAHASHI Susumu)
八戸工業大学・大学院工学研究所
・准教授
研究者番号：30337125