The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	有機低分子化合物の準安定形結晶化制御
Author(s)	森, 陽一朗
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/61735
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

博士学位論文

有機低分子化合物の準安定形結晶化制御

森　陽一朗

2017 年 1 月

大阪大学大学院工学研究科

内容梗概

本論文は、著者が大阪大学大学院工学研究科電気電子情報工学専攻において実施した研究成果をまとめたものである。バイオアベイラビリティに優れた薬剤の実現を目指し、薬となる有機低分子化合物の準安定形結晶化制御に取り組んだ。本論文は以下の 6 章で構成される。

第 1 章　序論

本論文に関する研究分野について述べ、本論文の研究背景と目的を述べた。

第 2 章　結晶多形の理論的背景

本章では結晶多形の理論的背景について説明し、さらに本論文で使用したモデル薬物アセトアミノフェンの結晶多形及びこれまで報告されている準安定形（Ⅱ形）の結晶化方法について述べた。

第 3 章　超音波照射によるアセトアミノフェンⅡ形の結晶化制御

本章では超音波照射によるアセトアミノフェンⅡ形の結晶化制御への取り組みをまとめた。アセトアミノフェン過飽和水溶液への超音波照射は、Ⅱ形の結晶化に有効であることを明らかにした。さらに応用技術として、過飽和水溶液中にプラスチック球を入れて超音波照射することで、より高確率かつ短時間でⅡ形の結晶化を誘起できることを見出した。

第 4 章　バルク状ポリマー界面を用いたアセトアミノフェン三水和物の結晶化制御

本章ではバルク状ポリマー界面を用いてアセトアミノフェン三水和物を結晶化制御することに成功した。本研究で得られた三水和物は先行研究と異なり、溶液中で長期間安定であった。この結果に基づき、三水和物の溶解度曲線を初めて作成した。温度領域 10-30°C ではⅠ形＜Ⅱ形＜三水和物の順で溶解度が高くなることが分かった。さらに、三水和物とⅠ形及びⅡ形との溶解度差は高温になるにつれて大きくなることが明らかとなった。

第 5 章　溶液媒介相転移を用いた準安定形の結晶化制御

本章では溶液媒介相転移によるアセトアミノフェンⅡ形の結晶化制御への取り組みをまとめた。温度 20°C の三水和物飽和溶液にⅡ形結晶を加えると、溶液媒介相転移によって三水和物の溶解及びⅡ形の成長が徐々に進み、最終的に溶液中の結晶は全てⅡ形になることを確認した。また、温度 20°C で溶液媒介相転移により育成したⅡ形結晶の経時安定性を評価したところ、超音波照射により得られたⅡ形結晶と比べて経時安定性に優れることが明らかとなった。さらに本手法は大容量溶液への応用も容易であり、経時安定性に優れるⅡ形

結晶を大量生産することが原理的に可能であることを明らかにした。

第 6 章　結論

本章では、本研究で得られた成果を総括し、今後の課題と将来の展望について述べ、本論文の結論とした。

目次

第 1 章　序論 1

1.1　研究背景 1

1.2　本研究の目的 3

1.3　論文の構成 3

第 2 章　結晶多形の理論的背景 7

2.1　はじめに 7

2.2　結晶多形の種類 7

2.3　結晶多形の熱力学 8

2.4　核発生理論と結晶多形の析出過程 10

2.5　結晶多形転移 12

2.5.1　固相転移 12

2.5.2　溶液媒介相転移 13

2.6　結晶多形制御因子 14

2.6.1　溶媒 14

2.6.2　超音波照射 15

2.6.3　レーザー照射 16

2.6.4　テンプレート 16

2.7　アセトアミノフェンの結晶多形と現状 17

2.7.1　アセトアミノフェンについて 17

2.7.2　アセトアミノフェンの結晶多形と水和物 17

2.7.3　アセトアミノフェンⅡ形の結晶化 20

2.8　まとめ 22

第 3 章　超音波照射によるアセトアミノフェンⅡ形の結晶化制御 27

3.1　はじめに 27

3.2　超音波照射によるアセトアミノフェンの結晶化 27

3.2.1　超音波照射方法 27

3.2.2　過飽和度とアセトアミノフェン結晶多形の関係 28

3.2.3　超音波照射によるアセトアミノフェンの結晶化 29

3.3　溶液内粒子状態の観測 31

3.3.1　観測方法 31

3.3.2　アセトアミノフェン未飽和溶液内の粒子状態観測 32

3.3.3　出発原料の純度とアセトアミノフェン未飽和溶液内の粒子状態の関係 ... 33

3.3.4　精製原料使用時における過飽和度とⅠ形自然核発生確率の関係 34

3.3.5　溶解プロセスの最適化 36

3.4　溶解プロセス最適条件下での超音波照射によるアセトアミノフェンの結晶化 36

3.4.1　溶解プロセス最適条件下での過飽和度とⅠ形自然核発生確率の関係 36

3.4.2　超音波照射によるアセトアミノフェンの結晶化 38

3.4.3　超音波周波数依存性 40

3.5　溶液中におけるⅡ形結晶の安定性 44

3.5.1　溶液中においてⅠ形・Ⅱ形結晶が共存した場合の経時変化 44

3.5.2　溶液中におけるⅡ形結晶の安定性評価 45

3.6　Ⅱ形結晶の経時安定性評価 46

3.6.1　経時安定性の評価方法 46

3.6.2　加速試験におけるⅡ形結晶の経時安定性 48

3.7　超音波とプラスチック球を組み合わせた新規Ⅱ形結晶化技術の開発 49

3.7.1　ポリプロピレン球添加効果 50

3.7.2　種々のプラスチック球の添加効果 52

3.7.3　プラスチック球存在下での超音波照射による結晶化その場観察 53
3.7.4　プラスチック球表面上にトラップされる気体の有無 54
3.7.5　プラスチック球表面凹凸の影響 56
3.7.6　プラスチック球自身が有する核発生促進効果 57
3.7.7　Ⅱ形結晶サイズ制御 58
3.7.8　大容量条件におけるプラスチック球添加の効果 60
3.8　まとめ 61

第 4 章　バルク状ポリマー界面を用いた
アセトアミノフェン三水和物の結晶化制御 65

4.1　はじめに 65
4.2　バルク状ポリマー界面を用いた三水和物の結晶化 65
4.2.1　バルク状ポリマーの作製方法 65
4.2.2　バルク状ポリマー界面を用いたアセトアミノフェンの結晶化実験 65
4.2.3　大型単結晶の構造解析 67
4.2.4　三水和物結晶の核発生及び成長のその場観察 68
4.3　大気中における三水和物結晶の経時安定性 70
4.3.1　大型三水和物単結晶の経時安定性評価 70
4.3.2　薄板状三水和物結晶の経時安定性評価 72
4.4　溶液中における三水和物結晶の安定性と溶解度測定 73
4.4.1　溶液中における三水和物結晶の安定性 73
4.4.2　三水和物結晶の溶解度測定 74
4.4.3　溶液中で安定に存在できる要因の考察 76
4.5　まとめ 79

第 5 章　溶液媒介相転移を用いた準安定形の結晶化制御 81

5.1　はじめに 81

5.2　準安定形結晶への溶液媒介相転移 81
5.3　溶液媒介相転移によるⅡ形結晶の育成 83
5.4　Ⅱ形結晶の経時安定性評価 87
5.5　大容量条件での溶液媒介相転移によるⅡ形結晶の育成 90
5.6　Ⅱ形結晶の溶解及び再成長のその場観察 92
5.6.1　溶液媒介相転移により育成したⅡ形結晶の溶解 92
5.6.2　溶液媒介相転移により育成したⅡ形結晶の溶解及び再成長 94
5.7　まとめ 96

第 6 章　結論 99

6.1　はじめに 99
6.2　本研究で得られた成果 99
6.3　将来の展望 102

謝辞 103

研究業績リスト 105

第 1 章　序論

1.1　研究背景

結晶多形とは同一化合物でありながら結晶系や空間群、分子のコンフォメーションが異なるものである。多くの有機化合物、無機化合物は結晶多形・擬似多形を有しており、同一化合物であっても結晶多形・疑似多形により物理化学的特性が異なるため、結晶多形・擬似多形現象は、医薬品、食品、顔料、染料、半導体などの広く様々な分野において研究の対象とされている[1,2]。

結晶多形の代表例としてグラファイトとダイヤモンドが炭素の同素体で多形の関係にある。両者は硬度をはじめ、熱伝導性や電気伝導性など多面において異なる物理化学的性質を有していることが知られている。他の結晶多形の研究例として、例えば次世代のパワー半導体として期待されている炭化珪素(SiC)は、珪素(Si)と炭素(C)の積層の仕方の違いで数多くのポリタイプ（結晶多形）と呼ばれる結晶構造が存在し、素子への応用にはこの多形の制御が極めて重要となる[3,4]。また、有機トランジスタに用いられる有機半導体材料として広く知られているルブレンも結晶多形を有し、多形の違いにより移動度等の特性が異なることから多形の制御が重要といえる[5]。さらに、食品の分野においても結晶多形制御は重要であり、チョコレートやマーガリンの製造過程において応用されている。結晶多形により口どけ、硬さ、スナップ性、展延性等が異なるため、食品を製品化するうえで良好な特性を示す結晶多形に制御する必要がある[6,7]。本研究対象である医薬品産業では、薬となる有機低分子化合物の多くは結晶多形を有し、多形の違いにより薬にとって極めて重要である安定性、製剤特性、溶解性、バイオアベイラビリティ（人体に投与された薬物が、どれだけ全身の血中に到達し作用するかの指標）等が異なる[8–12]。よって、医薬品開発において、薬に適した結晶多形を見出し、目的多形を結晶化制御することが重要となる。

ここで、医薬品が開発されるプロセスについて説明する[13]。創薬初期の探索研究においては、まず溶解状態の化合物が示す活性の評価が最優先で行われ、この活性スクリーニングから薬理活性を持つ新規化合物（ヒット化合物）が見出される。その後、溶解度や膜透過性などを改善するための構造修飾等を経ることで新薬として最適な化合物（リード化合物）が生み出される。このころから結晶多形が非常に重要な問題となる。医薬品原薬の 85%に結晶多形や擬似多形が存在するといわれており[14]、多形に関わる特許係争も非常に多いことから、存在し得る多形全てを把握する必要があるため、高速スクリーニングによる結晶多形探索が一般的に行われる[15]。見出された結晶多形の中から、溶解性、製剤特性、安定性などの多くの要求事項を考慮して、薬剤の製造に適した結晶多形が選択されるが、一般的には製造再現性や保存安定性の観点から、最安定形が採用される[16]。ここで最安定形は最も低い溶解度をもつ多形である[17]。水に対して溶解度が低いことは、バイオアベイラビリティの不足に繋がる場合が多いため、新原薬や製剤の開発過程における主要な課題となってい

る。米国薬局方（USP）は薬物の溶解度を表 1.1 のように分類しているが、市販されている短時間作用型の経口薬の 40%以上が practically insoluble に[18,19]、さらに薬剤の開発過程における新しい医薬候補化合物の 70%も同様に practically insoluble に分類されるといわれている[20]。以上のような背景から、溶解性・バイオアベイラビリティを改善する技術の開発が求められており、その改善方法として、プロドラッグ、共結晶、塩、非晶質製剤、ナノ粒子化など数多くの手法がこれまでに報告されている[21–25]。さらに、これら以外の溶解性・バイオアベイラビリティを改善する方法の一つとして、最安定形よりも高い溶解度を持つ準安定形の製剤使用に注目が集まっている。結晶多形と溶解性・バイオアベイラビリティの関連を調べる研究は数多くなされており、1967 年に Aguiar らは chloramphenicol palmitate の準安定形である多形 B は多形 A よりも体内においてより優れた吸収を示すことを明らかにした[26]。それに引き続き、催眠剤である pentobarbital[27]、利尿薬である spironolactone[28]、抗てんかん薬である carbamazepine[29]、抗消炎薬である indomethacin[30]などにおいても準安定形は優れた溶解性・バイオアベイラビリティを示すと報告されている。また、抗不安薬である nabilone は少なくとも 4 つの多形（A、B、C、D、A が最安定形）を持つが、これら 4 つの多形の中で犬において薬理活性が得られるのは準安定形である多形 B 及び C のみであることが報告されている[31]。以上より、医薬化合物の準安定形は体内における吸収を向上させ、バイオアベイラビリティを改善させるための手段として非常に有効であるといえる。一方で、準安定形は結晶化制御が困難であることや、安定性の面（安定形へ転移する可能性がある）から、製剤化において準安定形を選択することは敬遠されているのが現状である。以上のような背景から、準安定形を結晶化制御する技術及び準安定形結晶の安定性を向上させる技術の開発が実現すれば、優れたバイオアベイラビリティが期待できる準安定形の製剤化に繋がるものと考えられる。

表 1.1　薬物の溶解性の分類[18]

Solubility definition	Solubility range (mg/ml)
Very soluble	≥1000
Freely soluble	100-1000
Soluble	33-100
Sparingly soluble	10-33
Slightly soluble	1-10
Very slightly soluble	0.1-1
Practically insoluble	<0.1

1.2　本研究の目的

本研究の目的は、薬となる有機低分子化合物の準安定形を結晶化制御する技術及び準安定形結晶の安定性を向上させる技術を開発することである。本研究では、モデル薬物として解熱鎮痛薬 Acetaminophen（アセトアミノフェン、別名 Paracetamol、以後アセトアミノフェンと表記）を使用し、その準安定形（Ⅱ形）の結晶化制御に取り組んだ。これまで報告されているⅡ形結晶化法として蒸発法や冷却法などが挙げられるが、未だにⅡ形の結晶化メカニズムが不明確であり、また溶液中における安定性や大気中における安定性が低いケースも多い。そこで本研究では、超音波照射結晶化技術に着目し、Ⅱ形結晶化制御の可能性を検討した。同時に、本研究室において結晶析出前の原料の溶解条件により結晶化する多形が変化するとの報告があることから[32]、結晶多形制御には結晶析出前の溶液状態が重要な因子であり、その制御は必要不可欠であると考えている。そこで、溶液状態制御と超音波照射を組み合わせた効果についても検証した。さらに、超音波の効果をより増大させるための手法として、アセトアミノフェン過飽和水溶液中にプラスチック球を入れて超音波照射を行う新規技術の開発に取り組み、その効果についても調査した。ちなみに、これまでに超音波照射がアセトアミノフェンの結晶化プロセスに用いられた例はあるものの、Ⅱ形を選択的に結晶化した報告例はない。また、別の結晶多形制御技術として、アセトアミノフェン水溶液中へバルク状ポリマーを添加する手法にも取り組んだ。さらに、新規Ⅱ形結晶化制御技術として、アセトアミノフェンのⅡ形と三水和物間の溶液媒介相転移に着目し、Ⅱ形結晶の育成を試みた。本研究において、アセトアミノフェンⅡ形を結晶化制御する技術及びⅡ形結晶の安定性を向上させる技術の開発が実現すれば、既存薬剤のバイオアベイラビリティ向上、さらには過小評価されて実用化に至らなかった多くの医薬候補化合物を呼び起こす起爆剤になることも期待できるなど、創薬分野において大きな貢献を果たせると考えている。

1.3　論文の構成

本論文は第 1 章を含めて本文 6 章と謝辞及び研究業績リストで構成されている。

第 2 章では結晶多形の理論的背景について述べた後、モデル薬物アセトアミノフェンの結晶多形についてまとめている。第 3 章では超音波照射によりアセトアミノフェンⅡ形の結晶化制御を試みた結果について述べる。第 4 章ではバルク状ポリマー界面を用いたアセトアミノフェン三水和物の結晶化制御について述べる。第 5 章では、第 3 章と第 4 章で得られた結果を基に新規技術として溶液媒介相転移に着目し、アセトアミノフェンⅡ形の結晶化制御を試みた結果について述べる。最後に、第 6 章において本研究で得られた成果を総括し、今後の課題と将来の展望について述べ、本論文の結論とする。

参考文献

[1] J. Bernstein, Polymorphism in Molecular Crystals, Oxford University Press, New York, 2002.

[2] 松岡正邦, 結晶多形の最新技術と応用展開-多形現象の基礎からデータベース情報まで-, シーエムシー出版, 2005.

[3] A.R. Verma, and P. Krishna, Polymorphism and Polytypism in Crystals, Wiley, New York, 1966.

[4] R. Schörner, P. Friedrichs, D. Peters, and D. Stephani, IEEE Electron Device Lett. **20** (1999) 241.

[5] T. Matsukawa, M. Yoshimura, M. Uchiyama, M. Yamagishi, A. Nakao, Y. Takahashi, J. Takeya, Y. Kitaoka, Y. Mori, and T. Sasaki, Jpn. J. Appl. Phys. **49** (2010) 85502.

[6] R.L. Wille, and E.S. Lutton, J. Am. Oil Chem. Soc. **43** (1966) 491.

[7] V. D'Souza, L. deMan, and J.M. de Man, J. Am. Oil Chem. Soc. **68** (1991) 153.

[8] M.M. De Villiers, J.G. van der Watt, and A.P. Lötter, Int. J. Pharm. **88** (1992) 275.

[9] P. Di Martino, A.-M. Guyot-Hermann, P. Conflant, M. Drache, and J.C. Guyot, Int. J. Pharm. **128** (1996) 1.

[10] J.K. Pandit, S.K. Gupta, K.D. Gode, and B. Mishra, Int. J. Pharm. **21** (1984) 129.

[11] Y. Kato, and M. Kohketsu, Chem. Pharm. Bull. **29** (1981) 268.

[12] N. Kimura, H. Fukui, H. Takagaki, E. Yonemochi, and K. Terada, Chem. Pharm. Bull. (Tokyo). **49** (2001) 1321.

[13] 川上亘作, 医薬品開発における結晶多形の制御と評価, シーエムシー出版, 2011.

[14] P.H. Karpinski, Chem. Eng. Technol. **29** (2006) 233.

[15] S.L. Morissette, S. Soukasene, D. Levinson, M.J. Cima, and O. Almarsson, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. **100** (2003) 2180.

[16] M. Müller, U. Meier, D. Wieckhusen, R. Beck, S. Pfeffer-Hennig, and R. Schneeberger, Cryst. Growth Des. **6** (2006) 946.

[17] S.N. Bhattachar, L.A. Deschenes, and J.A. Wesley, Drug Discov. Today **11** (2006) 1012.

[18] T. Takagi, C. Ramachandran, M. Bermejo, S. Yamashita, L.X. Yu, and G.L. Amidon, Mol. Pharm. **3** (2006) 631.

[19] R. Censi, and P. Di Martino, Molecules **20** (2015) 18759.

[20] M.S. Ku, and W. Dulin, Pharm. Dev. Technol. **17** (2012) 285.

[21] V.J. Stella, and K.W. Nti-Addae, Adv. Drug Deliv. Rev. **59** (2007) 677.

[22] N. Shan, and M.J. Zaworotko, Drug Discov. Today **13** (2008) 440.

[23] A.T.M. Serajuddin, Adv. Drug Deliv. Rev. **59** (2007) 603.

[24] N.J. Babu, and A. Nangia, Cryst. Growth Des. **11** (2011) 2662.

[25] E.M. Merisko-Liversidge, and G.G. Liversidge, Toxicol. Pathol. **36** (2008) 43.

[26] A.J. Aguiar, J. Krc, A.W. Kinkel, and J.C. Samyn, J. Pharm. Sci. **56** (1967) 847.

[27] Y. Kato, Y. Okamoto, S. Nagasawa, and I. Ishihara, Chem. Pharm. Bull. **32** (1984) 4170.

[28] E.G. Salole, and F.A. Al-Sarraj, Drug Dev. Ind. Pharm. **11** (1985) 855.

[29] Y. Kobayashi, S. Ito, S. Itai, and K. Yamamoto, Int. J. Pharm. **193** (2000) 137.

[30] T. Yokoyama, T. Umeda, K. Kuroda, T. Nagafuku, T. Yamamoto, and S. Asada, Yakugaku Zasshi **99** (1979) 837.

[31] A.L. Thakkar, C.A. Hirsch, and J.G. Page, J. Pharm. Pharmacol. **29** (1977) 783.

[32] 山中梨紗子, 大阪大学工学部電子情報工学科 卒業論文, 2012.

第 2 章 結晶多形の理論的背景

2.1　はじめに

結晶多形とは、同一分子でありながら結晶中での分子のコンフォメーション（立体配座）や分子のパッキング（配列）が異なる現象のことである。結晶多形の違いにより、密度、融点、安定性、溶解度などの物理化学的性質が異なるため、数多くの分野で研究対象とされている[1,2]。医薬品産業では、薬となる有機低分子化合物の多くは結晶多形を有し、その構造の違いにより、薬にとって極めて重要である安定性、製剤特性、溶解度、溶解速度、バイオアベイラビリティなどが異なる。よって薬に適した結晶多形を見出し、最適多形を結晶化制御することは、膨大な時間と費用をかける医薬品開発において非常に重要な要素となっている[3]。しかしながら、これら多形の析出過程は複雑で、多形の相対的な核発生、成長及び転移の各々のプロセスに着目した検討が必要であると考えられる。薬となる有機低分子化合物は通常溶液から晶析が行われるので、本章では溶液からの結晶核発生の原理や結晶多形現象の理論および多形の析出挙動に関わる制御因子等を記述する。さらに、本研究にて多形制御のモデル薬物として使用したアセトアミノフェンの結晶多形について述べる。

2.2　結晶多形の種類

結晶多形の種類は、コンフォメーション多形とパッキング多形に分類することができる[4]。分子が有する結合によっては、複数の分子コンフォメーションをとる場合がある。例えば、C-C、C-N、C-O のような結合は回転可能であり、このような結合を有する分子の場合、コンフォメーション多形をもたらしうる。図 2.1 に示す 5-Methyl-2-[(2-nitrophenyl)amino]-3-thiophenecarbonitrile は、C-N 結合を有しており、コンフォメーション多形を有すると報告されている[5]。

一方で、分子のコンフォメーションは同じであるが、異なる分子間相互作用により、異なるパッキング（配列）様式で結晶多形を生じる場合があり、これをパッキング多形と呼ぶ。パッキング多形の代表例としては、アセトアミノフェンが挙げられる。安定形においては分子がプリーツシート状（ひだ状）に配列されているのに対し、準安定形においては分子が層状に配列されている[6,7]。

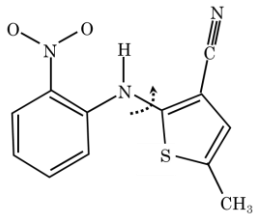


図 2.1　5-Methyl-2-[(2-nitrophenyl)amino]-3-thiophenecarbonitrile の構造式

2.3　結晶多形の熱力学

結晶構造は水素結合やファンデルワールス力等の結合により維持されており、結晶多形が異なると、それらが相互作用する力も異なるため、結晶多形はそれぞれ異なるエネルギー状態をとる。圧力が一定の場合、固相の自由エネルギーGは以下の式で表される。

$$G = H - TS \tag{2.1}$$

Hはエンタルピー、Sはエントロピー、Tは絶対温度である。ここで、エンタルピーHの温度Tに対する依存性は比熱容量C_Pを用いて以下の式で表される。

$$\left(\frac{\delta H}{\delta T}\right)_P = C_P \tag{2.2}$$

よって、エンタルピーHは温度Tの上昇とともに傾き比熱容量C_Pで増大する。C_Pも温度とともに増大するため、エンタルピーHの温度曲線の傾きは温度が上昇するにつれて増大する。また、熱力学第三法則から完全結晶のC_Pは絶対零度(0 K)でゼロになる。それゆえ、0 K におけるエンタルピーHの温度曲線の傾きはゼロになる。また、式(2.1)より自由エネルギーGの温度Tに対する依存性である次式が導ける。

$$\left(\frac{\delta G}{\delta T}\right)_P = -S \tag{2.3}$$

ここで、エントロピーSは常に正の値を取るため、自由エネルギーGは温度上昇とともに傾き$\left(\frac{\delta G}{\delta T}\right)_P$で低下する。図 2.2 に温度と自由エネルギー/エンタルピーの関係を示す。

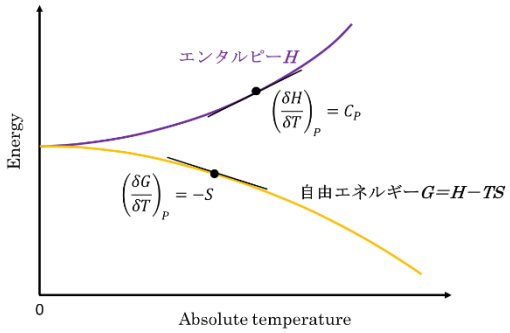


図 2.2　温度と自由エネルギー/エンタルピーの関係

図 2.3 に溶質である有機低分子化合物の一成分系での温度と自由エネルギー/エンタルピーの関係を示す。ここで一般的な場合として、2 つの多形（Ⅰ形、Ⅱ形）を持つ物質について考える。二つの多形の相対的な安定性は、それぞれが持つ自由エネルギーによって決定され、より低い自由エネルギーを持つ多形が安定形、より高い自由エネルギーを持つ多形が準安定形である。また、液体の自由エネルギーG_Lが固相の自由エネルギー（G_I、G_{II}）よりも低くなると固相は融解するため、固相の自由エネルギー（G_I、G_{II}）と液体の自由エネルギーG_Lが交差する温度が各多形の融点（T_I、T_{II}）となる。2 つの多形間の熱力学的関係は、図 2.3

に示すような(a)の単変系と(b)の互変系に分けることができる。図 2.3(a)においては、全ての温度領域でⅠ形の自由エネルギーG_Iの方がⅡ形の自由エネルギーG_{II}よりも低くなっているため、常にⅠ形が安定形、Ⅱ形が準安定形である。よって、多形転移は一方向（Ⅱ形からⅠ形）のみにしか進行しない。一方、図 2.3(b)においては、温度を変化させることで多形転移温度T_PにおいてⅠ形とⅡ形の自由エネルギーが交差するため、温度T_P以下ではⅠ形が、温度T_P以上ではⅡ形が安定形となる。よって、このような系では多形転移は温度を変化することで可逆的に起こる。

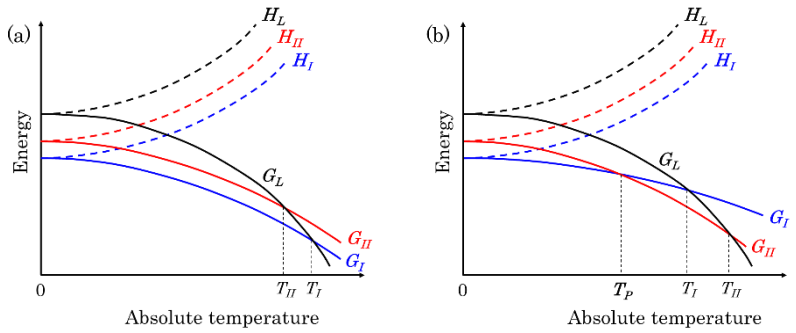


図 2.3　一成分系での温度と自由エネルギー/エンタルピーの関係：(a)単変系、(b)互変系（H_I：Ⅰ形のエンタルピー、H_{II}：Ⅱ形のエンタルピー、H_L：液体のエンタルピー、G_I：Ⅰ形の自由エネルギー、G_{II}：Ⅱ形の自由エネルギー、G_L：液体の自由エネルギー、T_P：多形転移温度、T_I：Ⅰ形の融点、T_{II}：Ⅱ形の融点）

通常、有機低分子化合物の晶析操作においては溶媒が存在するため、溶質、溶媒の二成分系について考えると、多形の自由エネルギーは溶解度に関連するため、溶解度は安定形の方が準安定形よりも低くなる。2 つの多形（Ⅰ形、Ⅱ形）を持つ物質について考えたとき、図 2.3 の場合と同様に、Ⅰ形とⅡ形の溶解度が互いに交差しない場合（単変系）と交差する場合（互変系）がある。図 2.4(a)に単変系の溶解度曲線を示す。このように全ての温度領域でⅡ形の溶解度の方がⅠ形よりも高くなっている場合、常にⅠ形が安定形、Ⅱ形が準安定形である。よって多形転移は一方向のみにしか進行しない。図 2.4(b)に示す互変系の溶解度曲線は、ある転移温度T_PでⅠ形とⅡ形の溶解度曲線が交差するため、この温度以下ではⅠ形が、この温度以上ではⅡ形が安定形となる。よってこの系において転移は温度を変化させることで可逆的に起こる。

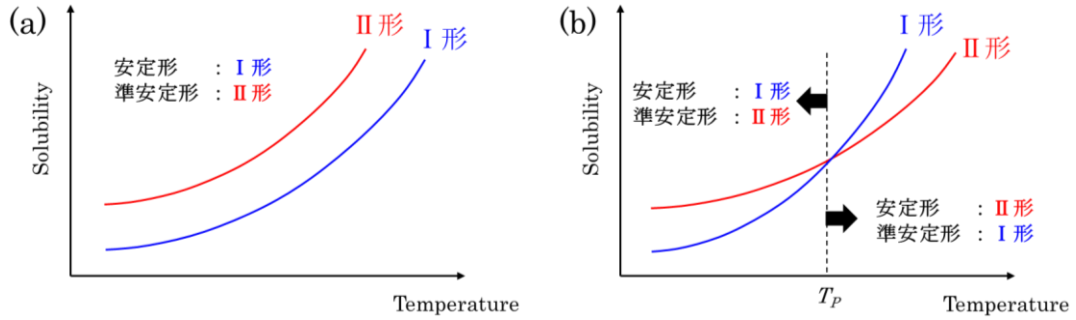


図 2.4　二成分系での結晶多形と溶解度：(a)単変系、(b)互変系

2.4　核発生理論と結晶多形の析出過程

熱力学は結晶多形の安定性の順序を決定するが、結晶化する際どの多形が出現するかは結晶多形の核発生の速度論的要因により決定づけられる[8]。古くから融液や溶液から結晶化をする際、はじめに準安定相が結晶化し、最終的に安定相へ転移するという現象が数多く報告されていた。この現象に基づいて、1897 年に Ostwald は、「ある状態から次の状態に移行するときは、自由エネルギー的に初期状態に最も近い状態を通って順次移行する」という法則（オストワルドの段階則）を提唱した[9]。一方で、オストワルドの段階則に従わず、最初に安定相が結晶化する、もしくは安定相と準安定相が同時に結晶化するという現象が、多くの材料で確認されている。

そこでまず多形の出現にかかわる溶液相からの核発生について原理を交えつつ記述する。溶液中では、自由に動いている分子同士が衝突してクラスターと呼ばれる会合体が生成され得る。たまたま二個の分子が衝突して二分子クラスターになり、そこへまた一分子が衝突して三分子クラスターになるという凝集過程が存在するのと同時に、クラスターから分子が離れる離脱過程も存在する[10]。過飽和溶液中では分子の凝集過程が優位に進むため、結晶の核発生は溶液が過飽和、すなわち飽和溶解度以上の濃度になった場合に生じる。過飽和溶液中に半径rのクラスターが形成されたとき時の系の自由エネルギー変化$\Delta G(r)$は次式で与えられる。

$$\Delta G(r) = -\frac{4\pi r^3}{3v}\Delta\mu + 4\pi r^2\gamma \tag{2.4}$$

ここでγは表面エネルギー、$\Delta\mu$は核生成の駆動力、vはクラスター中の分子一個の体積である。熱力学的に不安定な過飽和溶液中にクラスターという新たな相が形成されると、一分子あたり$\Delta\mu$だけ系の自由エネルギーが減少する。よって半径rのクラスターの生成により、式(2.4)の右辺第一項（バルク自由エネルギーと呼ぶ）の分だけ系の自由エネルギーは減少する。一方で、クラスターという新たな相の形成によって、表面積が増加すると表面エネルギーも増加する。つまり、式(2.4)の右辺第二項（表面エネルギー不利）の分だけ系の自由エネルギーは増加する。ここで溶液相における核生成の駆動力$\Delta\mu$は式(2.5)となる。

$$\Delta\mu = kT\ln\frac{C}{C_e} = kT\ln(1+\sigma),\ \ \sigma = \frac{C-C_e}{C_e} \tag{2.5}$$

ここで k はボルツマン定数、T、C、C_eはそれぞれ絶対温度、溶質濃度、平衡（飽和）濃度、σは過飽和度（図 2.5）である。

クラスターが小さい場合、表面エネルギー不利がバルク自由エネルギーの有利さを上回るため、rとともにΔGは増加する。しかしながら、クラスターがある大きさ（臨界半径r_c）を超えると、表面エネルギー不利よりもバルク自由エネルギーの減少が有利になるため、rとともにΔGは減少する。従ってΔGとrの関係は、図 2.6 に示すような極大値を持つ曲線となる。溶液中において、分子の凝集離脱過程が繰り返される中で、たまたま熱的ゆらぎによって、臨界半径r_cを越えるクラスターが形成されると、それは系の自由エネルギーが減少する方向に成長し続ける。この時、核が形成されたとみなすことができる。臨界半径r_cは式(2.6)、極大値ΔG_cは式(2.7)で与えられる。

$$r_c = \frac{2v\gamma}{kT\ln(1+\sigma)} \tag{2.6}$$

$$\Delta G_c = \frac{16\pi v^2\gamma^3}{3[kT\ln(1+\sigma)]^2} \tag{2.7}$$

式(2.6)及び(2.7)は、過飽和度σと表面エネルギーγの競合で臨界半径r_cや核形成に必要な自由エネルギーΔG_cが決まっていることを表している。式(2.6)より過飽和度が大きい程、臨界半径r_cは小さくなるといえる。このことから、過飽和度の小さい領域では臨界半径を越える大きさのクラスターは形成されにくく、過飽和度がある程度大きくなって初めて核発生が起こると考えられる。このことは過飽和状態でありながら核形成が生じない領域が存在することを示しており、この領域を準安定領域と呼ぶ。

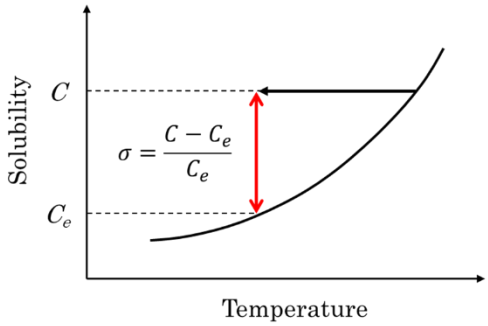


図 2.5　過飽和度の算出方法

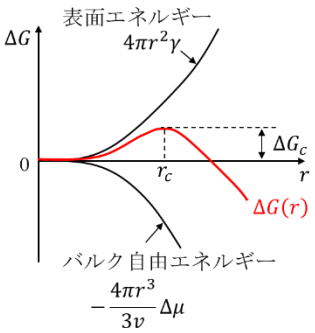


図 2.6　臨界半径r_cと核形成に必要な自由エネルギーΔG_c

核発生速度Jは、エネルギーΔG_c以上を持つクラスターの存在確率、すなわちボルツマン因子$\exp(-\Delta G_c/kT)$に比例し、式(2.8)で与えられる。

$$J = A \cdot \exp\left\{-\frac{16\pi v^2 \gamma^3}{3(kT)^3[\ln(1+\sigma)]^2}\right\} \tag{2.8}$$

ここで A は比例定数である。この核発生速度の式(2.8)を結晶多形（安定形(s)と準安定形(m)）に適用すると安定形の核発生速度J_s、準安定形の核発生速度J_mはそれぞれ以下の式で与えられる。

$$J_s = A_s \cdot \exp\left\{-\frac{16\pi {v_s}^2 {\gamma_s}^3}{3(kT)^3[\ln(1+\sigma_s)]^2}\right\} \tag{2.9}$$

$$J_m = A_m \cdot \exp\left\{-\frac{16\pi {v_m}^2 {\gamma_m}^3}{3(kT)^3[\ln(1+\sigma_m)]^2}\right\} \tag{2.10}$$

従って結晶多形の核発生速度は、過飽和度σと表面エネルギーγの競合で決定づけられる。ここで過飽和度σに着目すると、溶解度は準安定形よりも安定形の方が低いため、過飽和度σは常に安定形の方が大きい（$\sigma_s > \sigma_m$）。一方、表面エネルギーγに着目すると、表面エネルギーが大きい結晶は溶けにくく、表面エネルギーが小さい結晶は溶けやすい傾向にある[11]ため、表面エネルギーは溶解度の低い安定形の方が準安定形よりも大きいと考えられる（$\gamma_s > \gamma_m$）。図 2.7(a)に示すように低温側で安定形及び準安定形の両者に対して十分な過飽和度が与えられた状態では、Jはγの三乗で重み付けされるため、σよりもγの効果が大きくなり、準安定形の核発生が優勢となる。一方、核形成にはある程度の過飽和度が必要であるが、図 2.7(b)に示すように高温側で準安定形に対する過飽和が非常に小さい場合、γよりもσの効果が大きくなり安定形の核発生が優勢になると考えられる。

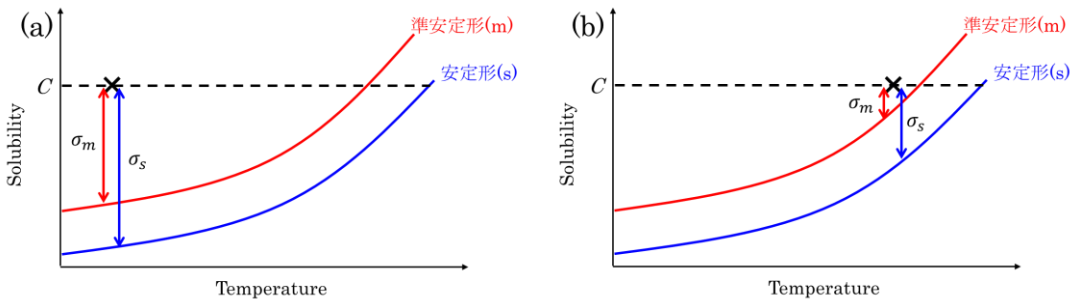


図 2.7　結晶多形の溶解度と過飽和度の関係：(a)低温側、(b)高温側（σ_s：安定形に対する過飽和度、σ_m：準安定形に対する過飽和度）

2.5　結晶多形転移

一度ある多形が結晶化したとしても、各多形の自由エネルギーの違いにより別の多形へ相転移する場合がある。転移には固相転移と溶液媒介相転移がある。

2.5.1　固相転移

結晶内部において分子の再配列が生じ、より安定な結晶構造へ変化することを固相転移

と呼ぶ。この固相転移は熱や機械的応力などによってしばしば引き起こされる。carbamazepine は熱により form I から form II に[12]、phenylbutazone は圧縮により form III から form II に転移することが報告されている[13]。また、chloramphenicol palmitate の場合、粉砕が固相転移を引き起こしうると報告されている[14]。

2.5.2　溶液媒介相転移

医薬などの有機化合物の多くは溶液からの結晶化現象を用いるため、溶液媒介相転移は結晶多形制御するうえで非常に重要な要素である。ここではその転移過程について図 2.8 の単変系の溶解度曲線を用いて説明する。一般的な場合として、2 つの多形（安定形（s）、準安定形（m））を持つ物質について考える。例えば、濃度Cの溶液を温度 A から冷却することで過飽和を生成し、温度 B（安定形と準安定形いずれも過飽和）において準安定形のみが核発生した場合を考える。温度 B では準安定形にとって過飽和にあるため、準安定形の成長が進み、結果として溶液濃度は低下する。そして最終的に溶液濃度は準安定形の溶解度であるC_mで停止し、溶液中には成長した準安定形結晶が残ると考えられる。次に、濃度Cの溶液を温度 A から冷却することで過飽和を生成し、温度 B（安定形と準安定形いずれも過飽和）において安定形と準安定形の両多形が核発生した場合を考える。温度 B では安定形と準安定形いずれも過飽和にあるため、安定形と準安定形どちらも成長が進み、結果として溶液濃度は低下する。このまま安定形と準安定形の成長が続くと、溶液濃度は次第に準安定形の溶解度であるC_mに近づき、いずれはそれ以下になる。すると準安定形にとっては未飽和となってしまうため準安定形の溶解が開始する。一方、安定形にとっては未だ過飽和にあるため安定形の成長は継続される。最終的に溶液濃度は安定形の溶解度であるC_sに到達し、溶液中の結晶は安定形のみになる。つまり溶液媒介相転移とは、溶液中で複数の多形が共存した場合、準安定形（溶解度の高い多形）の溶解及び安定形（溶解度の低い多形）の成長が進行する結果、溶液中の結晶は全て安定形へと転移する現象である（図 2.9）。従って安定形の核発生が溶液媒介相転移のきっかけであるため、準安定形を結晶化制御するには安定形への溶液媒介相転移を抑制、すなわち安定形の核発生を抑制しなければならない。ここで溶液媒介相転移速度は安定形の成長速度R_sと準安定形の溶解速度R_mによって支配される。それぞれの速度R_sとR_mは次式で与えられる。

$$R_s = K_G A_s \rho_L \cdot (\Delta C_s)^{\mathrm{p}} \tag{2.11}$$

$$R_m = K_D A_m \rho_L \cdot \Delta C_m \tag{2.12}$$

K_G、K_Dはそれぞれ安定形の成長速度定数、準安定形の溶解速度定数を表し、A_s、A_mはそれぞれ安定形、準安定形の結晶の表面積である。またΔC_s、ΔC_mはそれぞれ安定形の過飽和度、準安定形の未飽和度である。pは成長速度の過飽和度依存性を示す定数、ρ_Lは溶液の密度である。安定形の成長速度R_sは安定形の過飽和度ΔC_sに、準安定形の溶解速度R_mは準安定形の未飽和度ΔC_mに依存するため溶液媒介相転移の駆動力は安定形と準安定形の溶解度差であるといえ、溶解度差が大きくなるにつれて転移速度は速くなると考えられる。

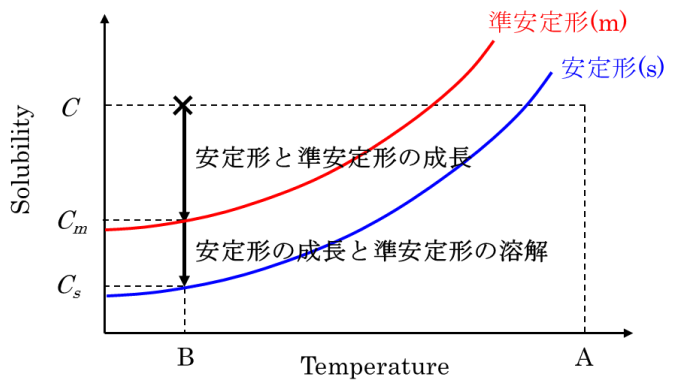


図 2.8　溶液媒介相転移過程

（C_s：温度 B における安定形の飽和濃度、C_m：温度 B における準安定形の飽和濃度）

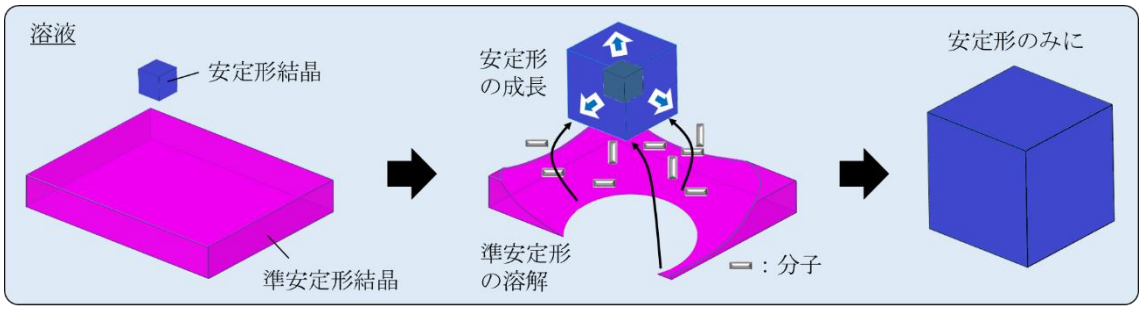


図 2.9　溶液媒介相転移の模式図

2.6　結晶多形制御因子

2.4 節において、単変系の場合を例として過飽和度は多形を決定する因子の一つであることを説明した。実際、様々な材料において、過飽和度は結晶化する多形に大きな影響を与えると報告されている[15–17]。ここでは、そのほかの代表的な制御因子について述べる。

2.6.1　溶媒

一般的に、溶媒は結晶化する多形に大きく影響を及ぼすことが知られている[18–20]。その一因として、溶媒が prenucleation cluster と呼ばれる前駆体の構造に影響を及ぼすためであると考えられる。一例として、dihydroxybenzoic acid の場合について説明する。dihydroxybenzoic acid は二つの多形（form 1 と form 2、form2 が安定形）を持つことが知られており、form1 はカルボン酸二量体に由来した結晶構造となっている。トルエン溶液中では、溶質と溶質の相互作用が最大化され、カルボン酸二量体の形成が進行するため、form 1 が結晶化する。一方、クロロホルム溶液中では、クロロホルムとカルボキシル基の相互作用により、カルボン酸二量体の形成が妨げられるため、form 2 が結晶化すると報告されている[21]。つまり、溶媒は分子の凝集プロセスにおいて発生する分子間相互作用の様式を決

定づける要素となるため、結晶多形制御において溶媒は重要な制御因子であるといえる。なお、溶媒に応じて、溶媒分子が結晶の構成物質として取り込まれて溶媒和物（疑似多形）として結晶化する可能性もある。

2.6.2　超音波照射

1927 年に Richards と Loomis が結晶化に与える超音波照射の効果を初めて報告[22]して以来、超音波照射と結晶化の関係に関して、これまでに様々な研究が報告されている。一般的に、超音波照射は結晶化プロセスの核形成段階において用いられ、核形成の誘起、準安定領域幅の狭小化、結晶化までの誘導時間の短縮、結晶サイズ分布の狭分散化、結晶多形の選択等の有益な効果をもたらすことが報告されている[23–29]。一方で、これらの効果のメカニズムは未だ完全に解明されていないが、超音波を液体中に照射した際に発生するキャビテーションに由来すると考えられている[30–33]。キャビテーションが発生する機構とキャビテーションがもたらす現象について簡単に述べる。超音波は圧力の変動が伝搬する波動であるため、液体中に超音波を照射すると、局所的に圧力の低下が生じる場所が生まれる。この時の負の圧力が、飽和蒸気圧より低くなったときにキャビテーション（気泡）が発生する。発生した気泡は、圧力の変動に伴いある程度の大きさまで成長した後、熱力学的に安定性を失い、急激に圧壊する。超音波キャビテーションの発生及び圧壊過程を図 2.10 に示す。圧壊時の気泡内部の温度は 5000 K、圧力は 1000 bar に到達するといわれている[34,35]。この高温・高圧の局所場（ホットスポット）が、超音波照射による物理的・化学的作用の源泉である[36,37]。また、常温である周囲の液体側に急激に熱を解放するため、気泡界面近傍の液体中では 10^{10} K/s という高速急冷が引き起こされると考えられている[38,39]。また、気泡が固体壁近傍で圧壊すると、非対称性のために 100 m/s 以上の速度で液体ジェットが固体壁に向かって打ち付けられる[40]。さらに、キャビテーションが圧壊したとき、気泡から液体中に衝撃波（速度 : 4000 m/s、圧力 : 60 kbar）が放射される[41,42]。このように様々な現象を引き起こすキャビテーションの作用が結晶化プロセスに大きな影響与えていると考えられている。本研究対象である超音波と結晶多形の関連性については、Gracin らは、p-Aminobenzoic acid（α form と β form を有する）の結晶化に超音波を使用し、通常 α form が結晶化しやすい条件において溶液に超音波を照射することで β form の結晶化ができると報告している[28]。これは、キャビテーションがもたらす高温・高圧過程に起因すると、以下のように述べている。p-Aminobenzoic acid はカルボキシル基を持っており、一般に溶液中ではカルボキシル基同士で水素結合を結び、中心対称の二量体になっていると考えられる。α form はこの中心対称二量体に基づいた結晶構造をしているため、通常の結晶化方法では α form が結晶化すると考えられる。一方、超音波照射した場合、超音波照射により生じる高温・高圧過程により、中心対称二量体の水素結合が弱められ、二量体の分離が進んだ結果、β form が結晶化しやすくなると考察している。また、Kurotani らは、sulfamerazine の結晶化における超音波照射の効果を調査しており、通常準安定形しか結晶化しない条件

において、超音波照射することにより、安定形も同時に核発生できると報告している[29]。ここでは、安定形の核形成のための自由エネルギー障壁を超えるエネルギーが超音波照射により与えられたためであると考察している。本研究では、この超音波照射に着目し、アセトアミノフェン準安定形の結晶化制御に取り組んだ。詳細は第 3 章に記載する。

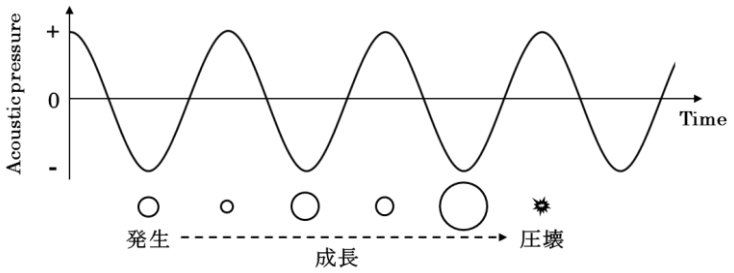


図 2.10　キャビテーションの生成・圧壊過程

2.6.3　レーザー照射

溶液へのレーザー照射は結晶化を誘起するのに有効であることが知られている[43–46]。1996 年に Garetz らは、尿素の過飽和水溶液に 1064 nm のレーザーを照射することで、尿素の結晶化を誘起できることを明らかにした[43]。この手法は Non-photochemical laser induced nucleation (NPLIN)と呼ばれている。また本研究室において、タンパク質溶液に対してパルス幅の短いレーザーであるフェムト秒レーザーを照射することで、効果的にタンパク質の結晶化を誘起できることを明らかにした[44]。この理由として、フェムト秒レーザーを溶液中に照射することで発生するキャビテーションバブルの周囲で局所的な分子の高濃度領域が形成されるためであると述べられている[47]。さらに近年においては、レーザー照射は多形の選択にも有効であることが報告されている[48–51]。Sun らは、グリシン過飽和水溶液に NPLIN を用いて直線偏光と円偏光のレーザーを照射したところ、それぞれ異なる多形の結晶化が誘起されることを明らかにした[49]。

2.6.4　テンプレート

結晶化過程においてテンプレートは重要な役割を果たしており、しばしば不均一核形成の結果として結晶化が促進される[52,53]。使用されるテンプレートとしては、ポリマー、自己組織化単分子膜（SAM）などが挙げられる[54–56]。特にポリマーをテンプレートとした結晶化技術は Polymer-induced heteronucleation (PIHn)と呼ばれており、数多くの材料に適用されている[57–59]。さらにポリマーの種類によって、結晶化する多形が異なることも報告されていることから、PIHn は新しい多形の発見や選択的な多形結晶化において非常に有効な手法であるといえる。Lang らは、PIHn をアセトアミノフェンにも適用しており、84 種類のポリマーが試された結果、① I 形が結晶化する、② II 形が結晶化する、③ I 形と II 形が混在して結晶化する、というように 3 種類に大別できると報告している[54]。詳細な

メカニズムに関してはまだ明らかになっていないが、ポリマー界面で有機分子が特異的な配向をするためであると考えられている[60–62]。本研究においても、この手法を利用して結晶化制御に取り組んでおり、詳細については第 4 章で述べる。

2.7　アセトアミノフェンの結晶多形と現状

本研究では、現在世界中で販売されており、かつ多形制御の事例としてしばしば研究対象に用いられる解熱鎮痛薬アセトアミノフェンをモデル薬物として選択した。ここでは、アセトアミノフェンの歴史およびアセトアミノフェンの有する結晶多形と水和物について述べる。また、これまでに報告されている主なアセトアミノフェン準安定形（Ⅱ形）の結晶化法についても記載する。

2.7.1　アセトアミノフェンについて

図 2.11 の構造式を持ち、解熱鎮痛薬の一つであるアセトアミノフェン(分子量：151.16、化学式$C_8H_9NO_2$)は、1878 年に Morse によって合成され、1887 年に Von Mering によって初めて臨床的に用いられた[63]。しかしながら、当時は同じ鎮痛剤である phenacetin の方が好んで使われており、アセトアミノフェンは使用されていなかった。一方で、phenacetin は腎臓毒性をもつことが分かり、1948 年の Brodie らの研究[64] によりアセトアミノフェンが再度注目を集め、1950 年代にアメリカにおいてアセトアミノフェンは鎮痛剤として販売されている。アセトアミノフェンは、他の非ステロイド性抗炎症薬と比べて胃障害や腎障害などの副作用が少ないため、現在は小児用の解熱鎮痛薬のような一般用医薬品に広く使用されており、医薬品産業においてアセトアミノフェンは重要な化合物であるといえる[65]。

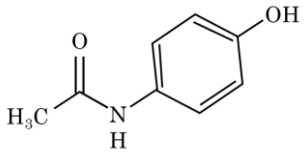


図 2.11　アセトアミノフェンの構造式

2.7.2　アセトアミノフェンの結晶多形と水和物

現在アセトアミノフェンには 3 つの結晶多形（Ⅰ形[6]：安定形、Ⅱ形[7]：準安定形、Ⅲ形[66,67]：準安定形）及び 3 つの水和物（一水和物[68]、二水和物[69]、三水和物[70,71]）が報告されている。Ⅰ形及びⅡ形の結晶構造は、単結晶 X 線構造解析により明らかとなっており、Ⅰ形は単斜晶、Ⅱ形は直方晶である[72]。Ⅲ形の結晶構造については、近年において粉末 X 線回折データと結晶構造予測（CSP）を用いることで直方晶であると判明している[67]。表 2.1 にⅠ形、Ⅱ形、Ⅲ形の結晶学データ[67,73]をまとめたものを示す。図 2.12 にⅠ形とⅡ形の結晶構造を示す[74]。3 つの結晶多形の室温における熱力学的な安定性の順序は、Ⅰ形＞Ⅱ形＞Ⅲ形となっている。Ⅰ形は溶液中から容易に結晶化することが可能であり、

市販製剤にも用いられている。Ⅱ形は結晶化制御することが困難であると知られているが、Ⅰ形と比べて錠剤化時の圧縮性及び溶解性という点においてメリットがある[75,76]。Ⅰ形は結晶中において分子がプリーツシート状（ひだ状）に配列されており、塑性変形に必要なすべり面を欠く構造となっているため、Ⅰ形は錠剤にする際、結合剤が必要となる[6,75]。一方、Ⅱ形は結晶中において分子が層状に配列されており、すべり面を有しているため塑性変形が可能となり、Ⅱ形は錠剤にする際、結合剤が不要になるという利点がある[7,75,77]。また、溶解性については、図 2.13 に示すように、Ⅰ形とⅡ形の関係は単変系であり、Ⅱ形の方がⅠ形よりも高い溶解度を有している[78]ことから、Ⅰ形と比較して優れたバイオアベイラビリティが期待できる。以上のことから、特にⅡ形の結晶化制御が重要となっており、2.7.3 で後述するようにⅡ形の製剤化実現に向けて様々な取り組みが行われている。Ⅲ形に関しては、限られた条件でのみ結晶化し、さらに非常に不安定であることが知られている[66,79,80]。Di Martino らは、アセトアミノフェンの融液をスライドガラスとカバーガラスの間において 53-55°C で冷却することによりⅢ形が結晶化するが、カバーガラスを外すと 1 時間程度でⅡ形に転移すると報告している[79]。また、Sudha らは、アセトアミノフェン水溶液を急冷することにより、Ⅲ形の結晶化に成功しているが、溶液媒介相転移により 7 秒程度でⅠ形に転移すると報告している[80]。

アセトアミノフェンの水和物（疑似多形）について簡単に述べる。Parkin らは、アセトアミノフェンと disodium terephthalate を水に溶解させた溶液を急冷することにより一水和物を結晶化させることに成功している[68]。しかしながら、一水和物は非常に不安定であり、大気中において 5 分程度で脱水してⅠ形に転移する。Fabbiani らは、アセトアミノフェン水溶液に 1.1 GPa の圧力をかけることで二水和物が結晶化すると報告している[69]。McGregor らは、アセトアミノフェン水溶液を冷却することにより三水和物を結晶化させることに成功している[70]。しかしながら、三水和物は非常に不安定であり、大気中において 1 分程度で脱水してⅠ形に転移する。また、三水和物は溶液中において 5°C よりも低温では安定であるが、5°C よりも高温に昇温すると溶液媒介相転移によりⅠ形に転移すると報告されている[71]。

表 2.1　アセトアミノフェン I 形、II 形、III 形の結晶学データ[67,73]

Polymorph	I 形	II 形	III 形
Chemical formula	$C_8H_9NO_2$	$C_8H_9NO_2$	$C_8H_9NO_2$
Molecular weight	151.16	151.16	151.16
Crystal system	単斜晶	直方晶	直方晶
Space group	$P2_1/n$	$Pbca$	$Pca2_1$
a, Å	7.0842(2)	11.7552(3)	11.837(36)
b, Å	9.1734(3)	7.13941(11)	8.560(25)
c, Å	11.5470(4)	17.1714(2)	14.819(45)
α, deg	90	90	90
β, deg	97.988(3)	90	90
γ, deg	90	90	90
V, Å^3	743.11(4)	1441.12(5)	1501.53
Z	4	8	4

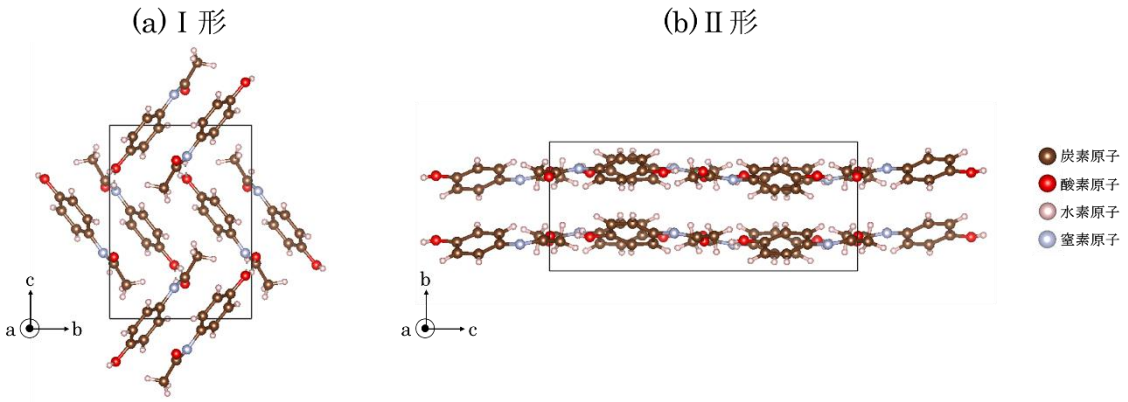


図 2.12　アセトアミノフェンの結晶構造（a 軸方向から見た図）：(a) I 形、(b) II 形

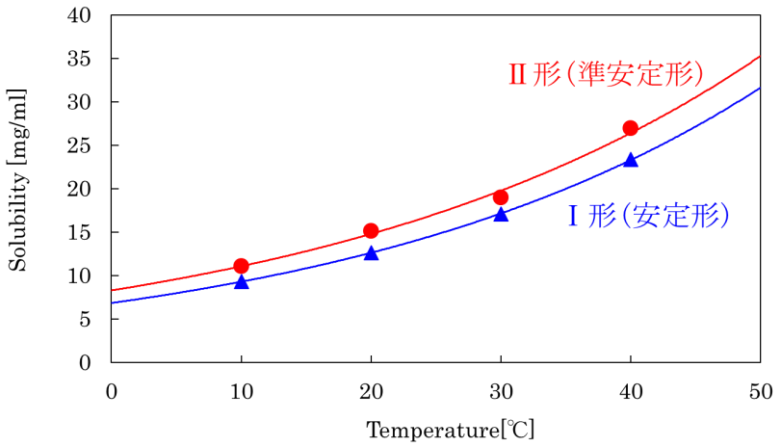


図 2.13　アセトアミノフェン I 形と II 形の溶解度

2.7.3　アセトアミノフェンⅡ形の結晶化

Ⅰ形は様々な溶媒の溶液から容易に育成が可能であるが、Ⅱ形は限られた方法でしか結晶が得られていない。1974 年に Haisa らは、エタノール溶液から低速で蒸発を行うことによりⅡ形を結晶化し、その結晶構造を初めて報告した[7]。しかしながら後の続く研究者たちは、Haisa らが報告した手法によってⅡ形を得ることができておらず、別のⅡ形結晶化方法が模索されてきた。ここでは、これまでに報告されている代表的なⅡ形の結晶化方法について述べる。

<u>融液からの結晶化</u>

1997 年に Di Martino らは、融液からⅡ形を結晶化させることに成功している[79]。Ⅰ形を融解させた融液を急冷するとⅠ形が結晶化するのに対し、融液を室温まで徐冷すると、まずガラス状のアセトアミノフェンが生成し、その 2 時間後にⅡ形が結晶化することを発見した。また、融液をスライドガラスとカバーガラスの間において 53-55°C で冷却すると、Ⅲ形が結晶化し、それを 70-120°C まで昇温、もしくはカバーガラスを取り除くことによりⅡ形が得られると報告している。

<u>種結晶法</u>

1998 年に Nichols らは、溶液からⅡ形結晶を得ることを目的とし、溶媒として変性アルコール（エタノール 96%、メタノール 4%）を使用し、アセトアミノフェン過飽和溶液に融液から作製した粉末状のⅡ形を種結晶として導入することでⅡ形結晶の成長を試みた[72]。その結果、Ⅱ形種結晶添加 10 分以内で急速にⅡ形結晶が成長することを確認し、種結晶添加から 15-20 分後に、Ⅱ形結晶を吸引濾過し濾紙上で乾燥させることによりⅡ形結晶を回収することに成功している。一方で、Ⅱ形結晶を少しでも多く得ようとして、さらに長時間（15-20 分+2-3 分程度）溶液中にⅡ形結晶を保持しておくと、Ⅰ形結晶が析出し成長し始めることを観察している。もし溶液中で保持し続けた場合、溶液媒介相転移が進行し、最終的に溶液中の結晶は全てⅠ形結晶になることも観察されている。この結果に基づいて、Haisa らがⅡ形を溶液中で結晶化して以来これまで溶液中でⅡ形結晶が得られにくかった理由として、結晶化したⅡ形を十分はやく回収していなかった可能性が高いためであると考察している。また、残留溶媒は貯蔵中におけるⅠ形結晶への転移を引き起こすため、Ⅱ形結晶はできるだけはやく完全に乾燥させることが重要であると述べられている。Ⅱ形結晶の安定性については、十分乾燥させたⅡ形結晶は室温でコック付きバイアル瓶に保管された場合、6 か月以上経過してもⅠ形への転移は確認されていない。また、粉砕などは固相転移を引き起こす可能性があるが、Ⅱ形結晶をメノウ乳鉢と乳棒を使ってすりつぶしたとしても、Ⅰ形への転移は起きないと報告している。しかしながら、現状の手法だと純粋なⅡ形結晶の収率は低く（30%以下）、Ⅱ形結晶の実用化には、結晶化と結晶回収プロセスを最適化する必要があると報告している。

Polymer-induced heteronucleation (PIHn)

一般的に結晶化する主要な要因は不均一核形成の結果であると広く認識されている。この不均一核形成に着目し、2002 年に Lang らは、不溶性のポリマーをアセトアミノフェン結晶化溶液中に入れておくことで、結晶化を誘起し、さらにポリマーの種類により結晶化する多形を制御できることを見出した[81]。具体的には 84 種類のポリマーを別々に添加しておいたアセトアミノフェン水溶液（16 mg/ml）を準備し、室温でゆっくりと蒸発させることで結晶化を行っている。その結果、I 形が結晶化するポリマー (ポリカーボネイトなど)、II 形が結晶化するポリマー（ポリオキシメチレンなど)、I 形と II 形が混合して結晶化するポリマー（ポリスチレンなど)、が存在することが明らかとなった。多形が分かれる理由としては、ポリマー表面の官能基と溶質分子の相互作用が影響していると考えられているが、詳しいメカニズムは分かっていない。この手法はポリマーの特性をパラメータとして一度に多くの結晶化条件を振ることができるので、医薬品開発段階での結晶多形スクリーニングにおいて強力なツールになると考えられる。一方で、得られた II 形結晶の溶液中での安定性や、乾燥後の安定性については触れられていない。

多段階冷却法

2004 年に Mikhailenko らは、複雑な多段階冷却法を用いて、水溶液から大型 II 形結晶を得ることに成功している[82]。以下に結晶化方法の詳細を示す。25 mg/ml のアセトアミノフェン水溶液を準備し、100°C まで加熱し 15 分間維持した後、40°C で 1 日間保持する。その後、溶液を 3°C/day の冷却速度で 23-18°C までゆっくり冷却した後に、溶液を 0-1°C 環境下に移す。その結果、3-24 日後に大型 II 形結晶（cm サイズ）が 95%の確率で得られたと報告している。得られた II 形結晶は室温において 3-4 か月で I 形への転移(90°C・2.34 kPa 条件下では 1 時間で転移)が確認されたため安定性に課題がある。この手法により得られた II 形結晶は、光学顕微鏡観察により、結晶内部に液胞として水が取り込まれていることが確認されており、このような結晶中の溶媒インクルージョンが I 形への転移を引き起こしたと指摘している。

多成分系結晶化プロセス

2011 年に Thomas らは、多成分系結晶化プロセスにより II 形を選択的に結晶化できることを報告した[83]。溶媒中に、第一成分であるアセトアミノフェンに加えて第二成分として様々なハロゲンで置換された安息香酸をいれて、蒸発法により結晶化を行っている。溶媒としてメタノールを使用し、第二成分として 4 ブロモ安息香酸を入れておくことで、選択的に II 形が結晶化すると報告している。また、第二成分のモル比も重要なパラメータであり、アセトアミノフェンと 4 ブロモ安息香酸の比が 2 : 1 であると 100% II 形が結晶化し、4 : 1 であると I 形と II 形が混合して結晶化することから、選択的な II 形結晶化のためには 4 ブロモ安息香酸の比率を高くする必要があることが分かっている。詳細なメカニズムは分か

っていないが、第二成分として 2 ブロモ安息香酸や 3 ブロモ安息香酸を入れておいた場合、結晶化するのは 100% I 形であることから、第二成分の構造の違いが結晶化する多形に影響を及ぼしていると考えられる。4 ブロモ安息香酸添加により得られたⅡ形結晶は、1 年以上安定であることが確認されている。一方で、この手法は第二成分を添加しているため、結晶化時における溶媒の蒸発により、アセトアミノフェンⅡ形だけでなく、4 ブロモ安息香酸も同時に結晶化する。結晶形状が異なるので、アセトアミノフェンⅡ形結晶と 4 ブロモ安息香酸結晶を見分けることは容易であるが、実用化する際においては、Ⅱ形結晶をいかに分別するかが課題になると考えられる。

<u>急冷結晶化法</u>

2014 年に Sudha らは、アセトアミノフェン水溶液の急冷結晶化法により、Ⅱ形結晶を得ることに成功しており、過飽和度と結晶多形の関係についても報告している[80]。45°C でアセトアミノフェン飽和水溶液を準備し、この溶液を 1-40°C（1°C 間隔）まで急冷し結晶化を試みている。その結果、低過飽和領域（$\sigma = 0.10 - 0.83$）では I 形、中過飽和領域（$\sigma = 0.92 - 1.28$）ではⅡ形、高過飽和領域（$\sigma = 1.33 - 1.58$）ではⅢ形が優先的に結晶化することが分かった。特定の過飽和度で準安定形であるⅡ形及びⅢ形が 100%結晶化すると報告されているが、得られた準安定形の溶液中における安定性は非常に低い。Ⅱ形は溶液中において結晶化から 30 分後にはⅡ形の溶解と I 形の成長が確認され、Ⅲ形は結晶化から 7 秒後にはⅢ形の溶解と I 形の成長が観察されている。

2.8　まとめ

本章では結晶多形の理論的背景について説明し、さらにモデル薬物アセトアミノフェンの結晶多形及びこれまで報告されている準安定形（Ⅱ形）の結晶化法について述べた。これまで数多くのⅡ形の結晶化制御方法が報告されているが、詳細なメカニズム等は明らかとなっておらず、また実際に結晶化制御と安定性の課題を解決してⅡ形結晶を実用化する動きには至っていない。よって、アセトアミノフェンⅡ形、さらにはアセトアミンフェン以外の様々な医薬化合物の準安定形を産業展開するための第一歩として、本研究ではモデル薬物アセトアミノフェンⅡ形の結晶化制御に取り組んだ。次章より、具体的な結晶化制御方法について記述する。

参考文献

[1] J. Bernstein, Polymorphism in Molecular Crystals, Oxford University Press, New York, 2002.

[2] 松岡正邦, 結晶多形の最新技術と応用展開-多形現象の基礎からデータベース情報まで-, シーエムシー出版, 2005.

[3] 川上亘作, 医薬品開発における結晶多形の制御と評価, シーエムシー出版, 2011.

[4] H.G. Brittain, Polymorphism in Pharmaceutical Solids, Marcel Dekker, New York, 1999.

[5] L. Yu, J. Phys. Chem. A **106** (2002) 544.

[6] M. Haisa, S. Kashino, R. Kawai, and H. Maeda, Acta Crystallogr. **B32** (1976) 1283.

[7] M. Haisa, S. Kashino, and H. Maeda, Acta Crystallogr. **B30** (1974) 2510.

[8] E.H. Lee, Asian J. Pharm. Sci. **9** (2014) 163.

[9] W. Ostwald, Z. Phys. Chem. **22** (1897) 289.

[10] 黒田登志雄, 結晶は生きている, サイエンス社, 1984.

[11] A.E. Nielsen, and O. Söhnel, J. Cryst. Growth **11** (1971) 233.

[12] T. Umeda, N. Ohnishi, T. Yokoyama, K. Kuroda, T. Kuroda, E. Tatsumi, and Y. Matsuda, Yakugaku Zasshi **104** (1984) 786.

[13] J. Matsunaga, N. Nambu, and T. Nagai, Chem. Pharm. Bull. **24** (1976) 1169.

[14] K. Nobuyoshi, and O. Makoto, Chem. Pharm. Bull. **33** (1985) 1660.

[15] P.A. Slavin, D.B. Sheen, E.E.A. Shepherd, J.N. Sherwood, N. Feeder, R. Docherty, and S. Milojevic, J. Cryst. Growth **237–239** (2002) 300.

[16] S. Datta, and D.J.W. Grant, Cryst. Res. Technol. **40** (2005) 233.

[17] S. Liang, X. Duan, X. Zhang, G. Qian, and X. Zhou, RSC Adv. **6** (2016) 74700.

[18] S. Khoshkhoo, and J. Anwar, J. Phys. D. Appl. Phys. **26** (1993) B90.

[19] I. Weissbuch, V.Y. Torbeev, L. Leiserowitz, and M. Lahav, Angew. Chemie - Int. Ed. **44** (2005) 3226.

[20] M. Kitamura, CrystEngComm **11** (2009) 949.

[21] R.J. Davey, N. Blagden, S. Righini, H. Alison, M.J. Quayle, and S. Fuller, Cryst. Growth Des. **1** (2001) 59.

[22] W.T. Richards, and A.L. Loomis, J. Am. Chem. Soc. **49** (1927) 3086.

[23] N. Amara, B. Ratsimba, A.M. Wilhelm, and H. Delmas, Ultrason. Sonochem. **8** (2001) 265.

[24] N. Lyczko, F. Espitalier, O. Louisnard, and J. Schwartzentruber, Chem. Eng. J. **86** (2002) 233.

[25] G. Ruecroft, D. Hipkiss, T. Ly, N. Maxted, and P.W. Cains, Org. Process Res. Dev. **9**

(2005) 923.

[26] E. Miyasaka, Y. Kato, M. Hagisawa, and I. Hirasawa, J. Cryst. Growth **289** (2006) 324.

[27] S. Ueno, R.I. Ristic, K. Higaki, and K. Sato, J. Phys. Chem. B **107** (2003) 4927.

[28] S. Gracin, M. Uusi-Penttilä, and Å.C. Rasmuson, Cryst. Growth Des. **5** (2005) 1787.

[29] M. Kurotani, and I. Hirasawa, J. Cryst. Growth **310** (2008) 4576.

[30] I. Nishida, Ultrason. Sonochem. **11** (2004) 423.

[31] J. Dodds, F. Espitalier, O. Louisnard, R. Grossier, R. David, M. Hassoun, F. Baillon, C. Gatumel, and N. Lyczko, Part. Part. Syst. Charact. **24** (2007) 18.

[32] H. Harzali, F. Espitalier, O. Louisnard, and A. Mgaidi, Phys. Procedia **3** (2010) 965.

[33] V.S. Nalajala, and V.S. Moholkar, Ultrason. Sonochem. **18** (2011) 345.

[34] K.S. Suslick, S.J. Doktycz, and E.B. Flint, Ultrasonics **28** (1990) 280.

[35] K.S. Suslick, and D.J. Flannigan, Annu. Rev. Phys. Chem. **59** (2008) 659.

[36] 崔博坤, 榎本尚也, 原田久志, 興津健二, 音響バブルとソノケミストリー, コロナ社, 2012.

[37] 超音波便覧編集委員会, 超音波便覧, 丸善, 1999.

[38] K.S. Suslick, and G.J. Price, Annu. Rev. Mater. Sci. **29** (1999) 295.

[39] J.H. Bang, and K.S. Suslick, Adv. Mater. **22** (2010) 1039.

[40] L. de los S. Castillo-Peinado, and M.D. Luque de Castro, J. Pharm. Pharmacol. **68** (2016) 1249.

[41] J.R. Blake, G.S. Keen, R.P. Tong, and M. Wilson, Philos. Trans. R. Soc. A Math. Phys. Eng. Sci. **357** (1999) 251.

[42] R. Pecha, and B. Gompf, Phys. Rev. Lett. **84** (2000) 1328.

[43] B. Garetz, J. Aber, N. Goddard, R. Young, and A. Myerson, Phys. Rev. Lett. **77** (1996) 3475.

[44] H. Adachi, K. Takano, Y. Hosokawa, T. Inoue, Y. Mori, H. Matsumura, M. Yoshimura, Y. Tsunaka, M. Morikawa, S. Kanaya, H. Masuhara, Y. Kai, and T. Sasaki, Japanese J. Appl. Physics, Part 2 Lett. **42** (2003) L798.

[45] Y. Hosokawa, H. Adachi, M. Yoshimura, Y. Mori, T. Sasaki, and H. Masuhara, Cryst. Growth Des. **5** (2005) 861.

[46] H.Y. Yoshikawa, Y. Hosokawa, and H. Masuhara, Jpn. J. Appl. Phys. **45** (2006) L23.

[47] H.Y. Yoshikawa, R. Murai, S. Sugiyama, G. Sazaki, T. Kitatani, Y. Takahashi, H. Adachi, H. Matsumura, S. Murakami, T. Inoue, K. Takano, and Y. Mori, J. Cryst. Growth **311** (2009) 956.

[48] J. Zaccaro, J. Matic, A.S. Myerson, and B.A. Garetz, Cryst. Growth Des. **1** (2001) 5.

[49] X. Sun, B.A. Garetz, and A.S. Myerson, Cryst. Growth Des. **6** (2006) 684.

[50] X. Sun, B.A. Garetz, and A.S. Myerson, Cryst. Growth Des. **8** (2008) 1720.

[51] K. Ikeda, M. Maruyama, Y. Takahashi, Y. Mori, H.Y. Yoshikawa, S. Okada, H. Adachi, S. Sugiyama, K. Takano, S. Murakami, H. Matsumura, T. Inoue, M. Yoshimura, and Y. Mori, Appl. Phys. Express **8** (2015) 45501.

[52] D. Turnbull, J. Chem. Phys. **18** (1950) 198.

[53] N.E. Chayen, E. Saridakis, and R.P. Sear, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. **103** (2006) 597.

[54] M. Lang, A.L. Grzesiak, and A.J. Matzger, J. Am. Chem. Soc. **124** (2002) 14834.

[55] R. Hiremath, S.W. Varney, and J.A. Swift, Chem. Commun. (2004) 2676.

[56] R. Hiremath, J.A. Basile, S.W. Varney, and J.A. Swift, J. Am. Chem. Soc. **127** (2005) 18321.

[57] C.P. Price, A.L. Grzesiak, and A.J. Matzger, J. Am. Chem. Soc. **127** (2005) 5512.

[58] A.L. Grzesiak, F.J. Uribe, N.W. Ockwig, O.M. Yaghi, and A.J. Matzger, Angew. Chem. Int. Ed. **45** (2006) 2553.

[59] A.L. Grzesiak, and A.J. Matzger, Inorg. Chem. **46** (2007) 453.

[60] V. Lopez-Mejias, J.L. Knight, C.L. Brooks, and A.J. Matzger, Langmuir **27** (2011) 7575.

[61] A.A. McClelland, V. López-Mejías, A.J. Matzger, and Z. Chen, **27** (2011) 2162.

[62] E. Curcio, V. López-Mejías, G. Di Profio, E. Fontananova, E. Drioli, B.L. Trout, and A.S. Myerson, Cryst. Growth Des. **14** (2014) 678.

[63] A. Bertolini, A. Ferrari, A. Ottani, S. Guerzoni, R. Tacchi, and S. Leone, CNS Drug Rev. **12** (2006) 250.

[64] B.B. Brodie, and J. Axelrod, J. Pharmacol. Exp. Ther. **94** (1948) 29.

[65] 国分秀也, 籠幸市朗, 的場元弘, 磯野雅子, 外須美夫, 矢後和夫, Pallative Care Res. **1** (2006) 311.

[66] A. Burger, Acta Pharm. Technol. **28** (1982) 1.

[67] M.-A. Perrin, M.A. Neumann, H. Elmaleh, and L. Zaske, Chem. Commun. (2009) 3181.

[68] A. Parkin, S. Parsons, and C.R. Pulham, Acta Crystallogr. **E58** (2002) o1345–o1347.

[69] F.P.A. Fabbiani, D.R. Allan, W.I.F. David, S.A. Moggach, S. Parsons, and C.R. Pulham, CrystEngComm **6** (2004) 504.

[70] P.A. McGregor, D.R. Allan, S. Parsons, and C.R. Pulham, J. Pharm. Sci. **91** (2002) 1308.

[71] M.L. Peterson, D. McIlroy, P. Shaw, J.P. Mustonen, M. Oliveira, and Ö. Almarsson, Cryst. Growth Des. **3** (2003) 761.

[72] G. Nichols, and C.S. Frampton, J. Pharm. Sci. **87** (1998) 684.

[73] D.A. Druzhbin, T.N. Drebushchak, V.S. Min'kov, and E. V Boldyreva, J. Struct. Chem. **56** (2015) 317.

[74] K. Momma, and F. Izumi, J. Appl. Crystallogr. **44** (2011) 1272.

[75] P. Di Martino, A.-M. Guyot-Hermann, P. Conflant, M. Drache, and J.C. Guyot, Int. J. Pharm. **128** (1996) 1.

[76] Y.T. Sohn, J. Kor. Pharm. Sci. **20** (1990) 97.

[77] E. Joiris, P.D. Martino, C. Berneron, A.-M. Guyot-Hermann, and J.-C. Guyot, Pharm. Res. **15** (1998) 1122.

[78] Y. 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, Appl. Phys. Express **8** (2015) 65501.

[79] P. Di Martino, P. Conflant, M. Drache, J.-P. Huvenne, and A.-M. Guyot-Hermann, J. Therm. Anal. **48** (1997) 447.

[80] C. Sudha, and K. Srinivasan, J. Cryst. Growth **401** (2014) 248.

[81] M. Lang, A.L. Grzesiak, and A.J. Matzger, J. Am. Chem. Soc. **124** (2002) 14834.

[82] M.A. Mikhailenko, J. Cryst. Growth **265** (2004) 616.

[83] L.H. Thomas, C. Wales, L. Zhao, and C.C. Wilson, Cryst. Growth Des. **11** (2011) 1450.

第 3 章　超音波照射によるアセトアミノフェンⅡ形の結晶化制御

3.1　はじめに

2.6.2 で述べたように、超音波照射は主に結晶化プロセスの核形成段階において用いられ、核形成の誘起、準安定領域幅の狭小化、結晶化までの誘導時間の短縮、結晶サイズ分布の狭分散化等の有益な効果をもたらすことが知られている[1–4]。さらに近年では、超音波照射が結晶多形の選択に影響を及ぼすことも報告されている[5,6]。一方で、様々な材料に応用できる体系的な超音波照射を用いた結晶多形制御法は確立していない。そこで本章では、体系的な結晶多形制御法の確立に向けて、超音波照射によりモデル薬物であるアセトアミノフェンⅡ形（準安定形）を結晶化制御することを目的とし、その技術開発に取り組んだ。

3.2　超音波照射によるアセトアミノフェンの結晶化

3.2.1　超音波照射方法

一般的には、溶液中に超音波プローブを直接導入して超音波を照射する場合が多い[7,8]が、本研究では手軽に行える超音波洗浄機を用いて実験を行った。超音波洗浄機はアズワン社製の超音波洗浄機 VS-100III を使用した。この装置は 28、45、100 kHz の超音波周波数を選択することが可能である。図 3.1 に超音波照射の模式図を示す。図 3.1 に示すように、アセトアミノフェン水溶液を入れたサンプルは、2 つの振動子の中央位置に上から吊るす形で設置されている。また、超音波照射によりキャビテーションが発生する位置は、洗浄機内に入れる水の量（水位）により変化することを確認しており[9]、本実験ではサンプル設置位置でキャビテーションが良く発生するように洗浄機内の水位を調節している。具体的には、洗浄機内の水位は、28 KHz の場合は 70 mm、45 及び 100 kHz の場合は 65 mm とした。

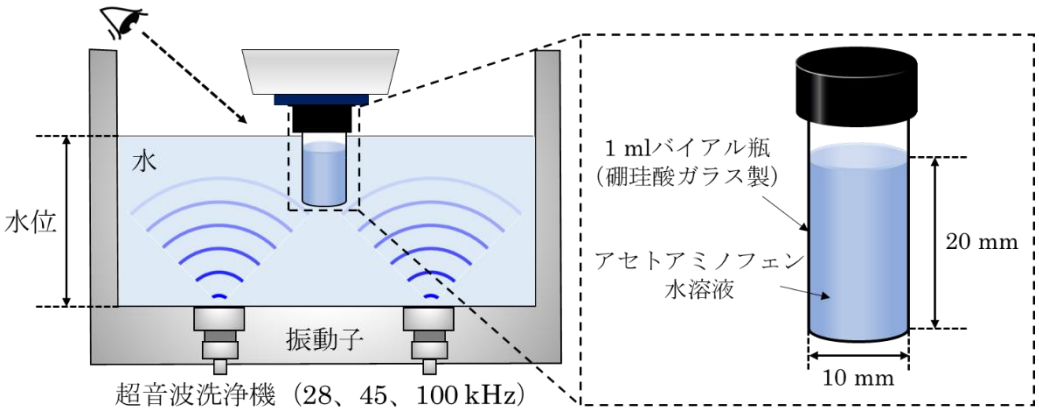


図 3.1　超音波照射の模式図

3.2.2　過飽和度とアセトアミノフェン結晶多形の関係

一般的に、過飽和度は結晶化する多形に大きな影響を与えると様々な材料で報告されている[10–12]。本実験においても、超音波照射実験を行う前に、アセトアミノフェンにおいて過飽和度が結晶多形に与える影響について調査するため、複数の過飽和条件のアセトアミノフェン水溶液を作製した。本実験の概要を図 3.2 に示す。溶媒として超純水（18.2 MΩ cm）、原料として Acros 社製のアセトアミノフェン粉末（純度 : 98%）を使用した。このアセトアミノフェン粉末は粉末 X 線回折測定により、Ⅰ形であることを確認している。アセトアミノフェンⅠ形粉末を超純水に加え、濃度 12-108 mg/ml の溶液を調製した。次に、温度 60-90°C に加熱し 3 時間かけて溶解させた後、1 ml バイアル瓶に 0.8 ml ずつ溶液を分注した（各濃度 10 サンプル）。これを冷却速度 3°C /h で 0°C まで冷却して過飽和状態（過飽和度$\sigma_I = 0.8 - 14.8$（$\sigma_{II} = 0.4 - 12$））に保った。そして、0°C 到達後 3 日間静置させた後の結晶化確率を調査した。結晶化確率は、準備した 10 サンプルに対して、結晶が析出したサンプル数の割合で定義した。得られた結晶は、顕微鏡観察、粉末 X 線回折測定（SmartLab、リガク社製）、ラマン分光法（RAMAN-11、Nanophoton 社製）により多形の同定を行っており、これ以降の実験でも同様とする。

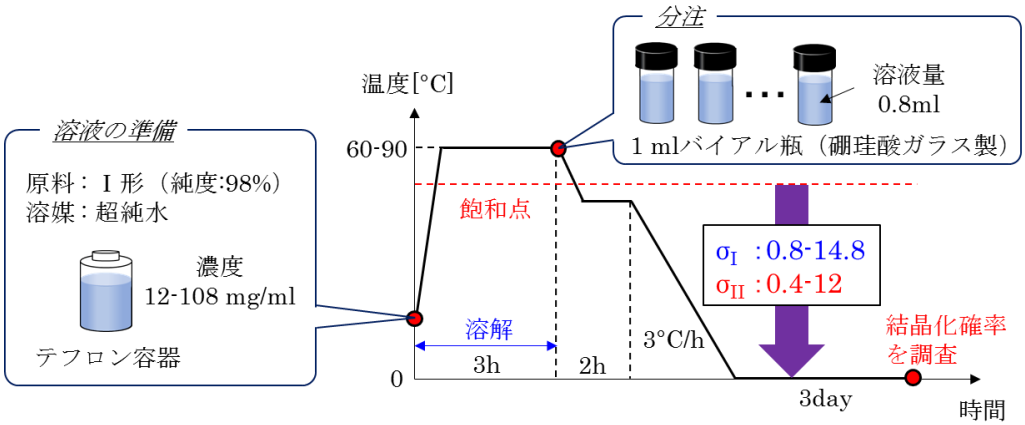


図 3.2　本実験の概要

以下に実験結果についてまとめる。低過飽和条件（$\sigma_I = 0.8 - 3.4$）では、溶液を過飽和状態にしても、結晶化は全く見られなかった。一方、過飽和度σ_Iが 4.3 まで増加すると、自然核発生が 30%の確率で確認され、過飽和度σ_Iが 4.8 以上になると 100%の確率で自然核発生が起きることを確認した。図 3.3(a-b)に$\sigma_I = 7.5$の条件で自然核発生した結晶写真を示す。また、図 3.3(c)は$\sigma_I = 7.5$の条件で自然核発生した結晶の粉末 X 線回折パターンを示しており、Ⅰ形とⅡ形の粉末 X 線回折パターンが記載されている文献[13]と比較した結果、Ⅰ形であることを確認した。さらに、$\sigma_I \geq 4.3$において自然核発生した結晶は全てⅠ形であることを確認した。各過飽和条件におけるⅠ形自然核発生確率をまとめた結果を図 3.4 に示す。以上の結果より、上に示した手順でアセトアミノフェン過飽和水溶液を調製した場合、高過飽和条件（$\sigma_I \geq 4.3$）においてⅠ形が自然核発生しやすい傾向であることが明らかとなった。

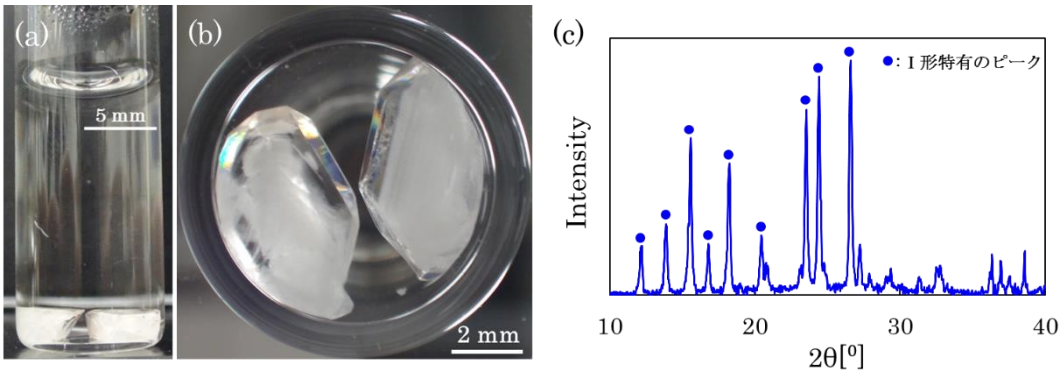


図 3.3　自然核発生した結晶（$\sigma_I = 7.5$）：(a)側面写真、(b)底面写真、(c)粉末 X 線回折パターン（青丸印：I 形特有のピーク）

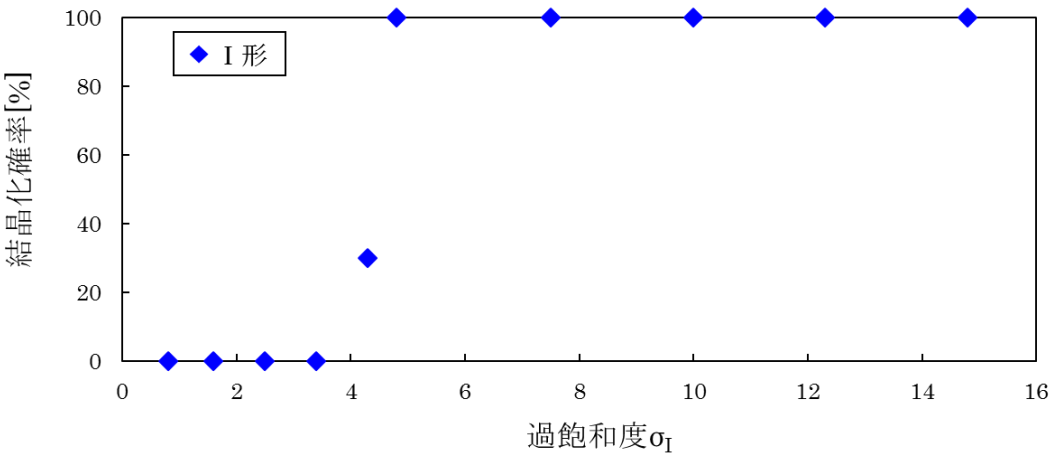


図 3.4　I 形自然核発生確率の過飽和度依存性

3.2.3　超音波照射によるアセトアミノフェンの結晶化

次に、3.2.2 の 0°C 到達約 5 日経過後の未析出サンプル（$\sigma_I = 0.8 - 4.3$（$\sigma_{II} = 0.4 - 3.3$））に対して超音波照射を行い、Ⅱ形結晶化の可能性を検証した。超音波照射条件は、周波数が 45 kHz で、10 秒照射-10 秒待機を繰り返す断続条件とし、超音波照射中もしくは 10 秒待機期間中において結晶化を肉眼で確認した場合はすぐに断続照射を停止した。この断続照射は、最長で 300 秒まで続けた。また、超音波照射により容器が破損する場合が稀にあり、破損した場合は調査の対象外とした。

以下に実験結果についてまとめる。低過飽和条件の$\sigma_I = 0.8 - 1.6$（$\sigma_{II} = 0.4 - 1.2$）では超音波を照射しても全く結晶化が見られなかったのに対し、比較的高い過飽和条件の$\sigma_I = 2.5 - 4.3$（$\sigma_{II} = 1.9 - 3.3$）では高確率（90%以上）で結晶化の誘起が確認された。超音波照射した場合、平板状結晶（図 3.5(a-b)）と針状結晶（図 3.5(d-e)）の 2 種類の結晶が得られた。平板状及び針状結晶の粉末 X 線回折測定結果を図 3.5(c)と(f)それぞれに示す。I 形とⅡ形の粉末 X 線回折パターンが記載されている文献[13]と比較した結果、平板状結晶は I 形、

針状結晶はⅡ形であることを確認した。超音波照射による結晶化確率をまとめた結果を図 3.6 に示す。以上の結果より、一定以上の過飽和度$\sigma_I \geq 2.5$（$\sigma_{II} \geq 1.9$）を持つアセトアミノフェン過飽和水溶液を作製し、超音波照射することで、Ⅱ形の結晶化が可能であることを初めて明らかにした。一方で、3.2.2 で述べたように、高過飽和条件（$\sigma_I \geq 4.3$）においてⅠ形の自然核発生を抑制できないことや、図 3.6 に示すように超音波を照射しても一定の確率でⅠ形が結晶化してしまうという課題がある。そこで 3.3 節では、溶液内の粒子状態に着目し、Ⅰ形の自然核発生抑制及び超音波照射によるⅡ形結晶化確率の向上に取り組んだ。

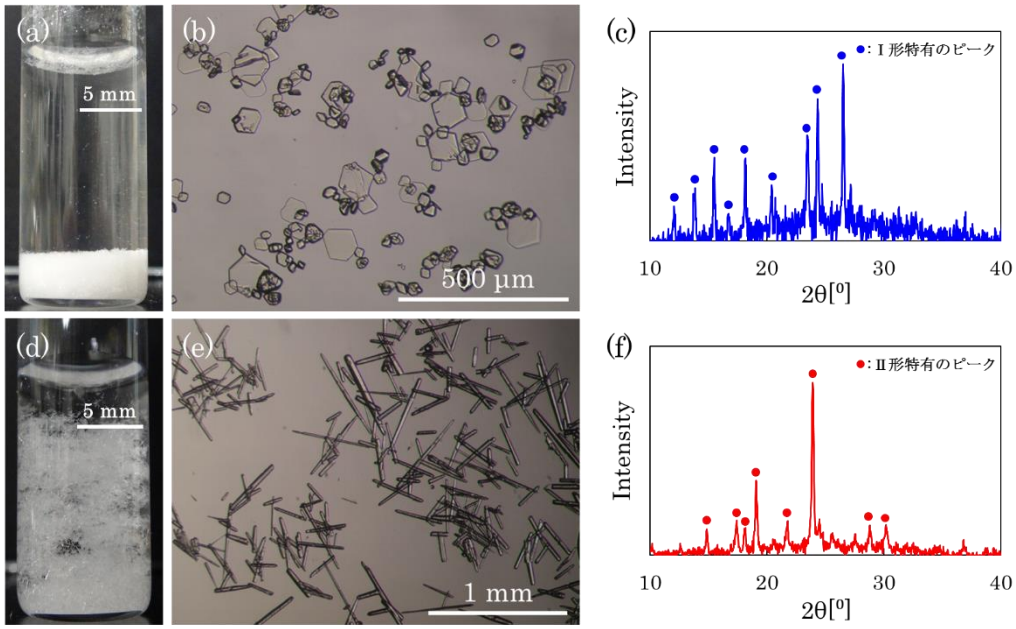


図 3.5　超音波照射により得られた 2 種類の結晶写真及び粉末 X 線回折パターン（$\sigma_I = 4.3$（$\sigma_{II} = 3.3$））：(a-c)平板状結晶、(d-f)針状結晶　（青丸印：Ⅰ形特有のピーク、赤丸印：Ⅱ形特有のピーク）

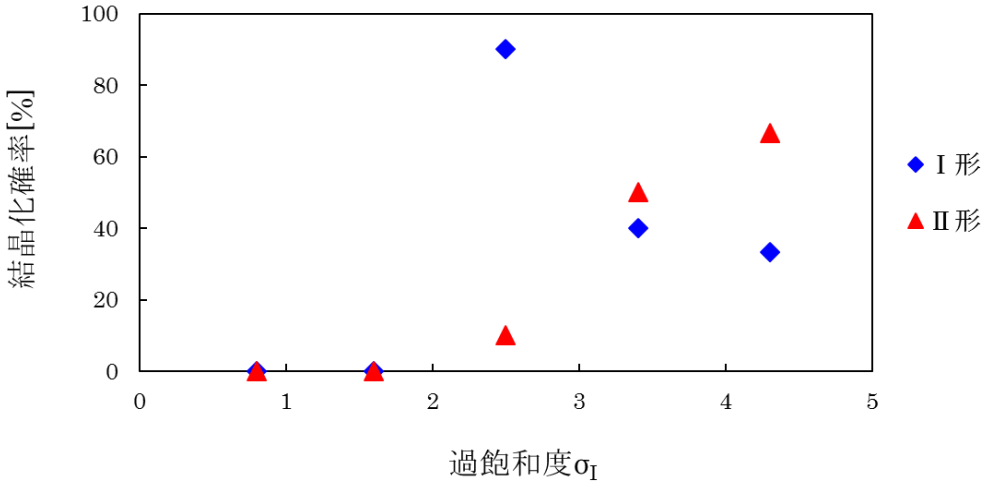


図 3.6　超音波照射による結晶化確率の過飽和度依存性

3.3　溶液内粒子状態の観測

アセトアミノフェン水溶液からどの多形が結晶化するかは、結晶化時の条件（温度、過飽和度、超音波照射条件など）以外にも、結晶化前の溶解条件によっても大きく左右される。山中は、アセトアミノフェンを水溶液から結晶化する際、原料の溶解を 60°C、90°C の 2 条件で行ったところ、90°C で溶解させた方がⅡ形の結晶化確率が向上することを明らかにした[14]。このことは、肉眼では同じように溶解していたとしても、実際には溶解条件により溶液状態が変化しており、結果として結晶化する多形に影響を与えていると考えられる。よってⅠ形の自然核発生抑制及び超音波照射によるⅡ形結晶化確率の向上に向けて、目に見えない溶液内粒子状態の観測を試み、溶液内粒子状態と結晶化多形との相関を調査した。溶液内の粒子を測定する手法として、本実験では溶液に対してレーザー光を照射し、散乱して出てきた光（散乱光）を観測することによって、溶液内粒子状態を観測できないか試みた。

3.3.1　観測方法

アセトアミノフェン水溶液を光学セルに分注し、レーザー光を照射してその散乱光をカメラで画像撮影することで溶液内粒子状態を捉えようと試みた。本実験では Nd:YAG レーザーの基本波である波長 1064 nm のレーザー光を LBO 結晶で波長変換し、得られる第 2 高調波（波長 532 nm）を出力 20-36 mW でアセトアミノフェン水溶液に入射させた。また奥行き方向の輝点の重なりを減らし観察を行い易くするため、入射光の奥行き方向はシリンドリカルレンズを用いて 84 μm に絞られている。光散乱観察を行う系の概略図を図 3.7 に示す。一例としてアセトアミノフェン水溶液中の光散乱観察を行った結果を図 3.8 に示す。入射光の偏光方向は散乱面に対して垂直な方向と平行な方向にした場合の 2 パターン行っている。図 3.8 に示すように、アセトアミノフェン水溶液中には入射する緑色光の光路として確認できる光散乱と、輝点として確認できる光散乱の 2 種類が存在していることが分かる。また光路として確認できる光散乱強度は、入射光の偏光方向を散乱面に対して垂直な方向にした時にはっきりと観察され、散乱面に対して平行にした時には観察されなかった。このように光散乱強度が入射光の偏光方向に依存するような光散乱はレイリー散乱と呼ばれており、サイズが入射光の波長（532 nm）の 10 分の 1 以下の非常に微小な散乱体が原因であると考えられる。一方で、輝点として確認できる光散乱は、入射光の偏光方向によらず光散乱強度はほぼ不変であり、サイズが入射光の波長（532 nm）程度かそれ以上の比較的大きな散乱体が原因であると考えられる。一般的に、散乱体のサイズが入射光の波長と同程度の場合はミー散乱、波長より十分大きい場合は幾何学的散乱と呼ぶ。本実験では入射光の偏光方向を輝点状の散乱のみが観測できる散乱面に対して平行な方向として実験を行った。光散乱観察は、光散乱以外の光の検出を防ぐために暗室内で行っている。カメラの撮影条件は、シャッター速度は 1/50 s、絞り（f 値）は 4.8、ISO 感度は 800 としている。

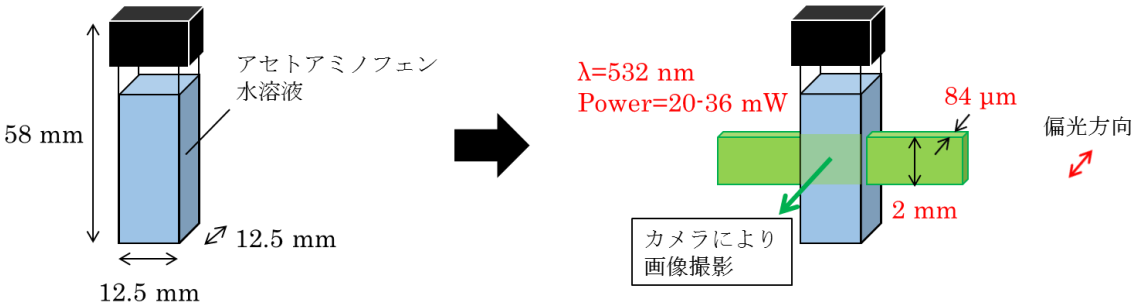


図 3.7　溶液内粒子状態を観測する実験の概略図

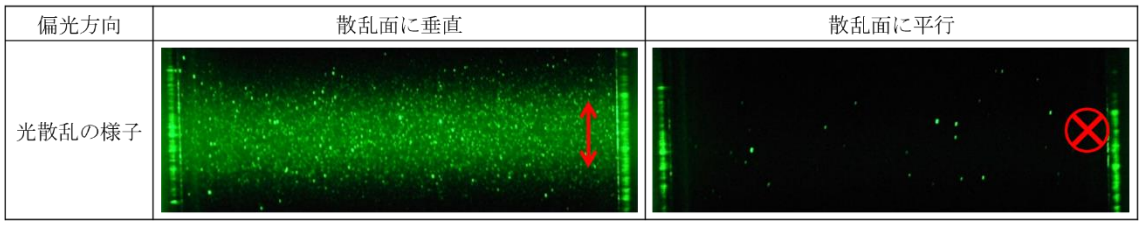


図 3.8　アセトアミノフェン水溶液の光散乱の偏光方向依存性

3.3.2　アセトアミノフェン未飽和溶液内の粒子状態観測

3.2.2 で述べた手順と同様に、Acros 社製のアセトアミノフェン I 形粉末（純度：98%）を超純水に加え、濃度 32 mg/ml（飽和点：50°C）の溶液を調製し、温度 60°C に加熱し 3 時間かけて溶解させた。次に、溶液を光学セルに分注し、直後にレーザー光を入射することで、アセトアミノフェン未飽和溶液の散乱測定を行った。図 3.9 にアセトアミノフェン未飽和溶液及び溶媒である超純水における散乱の様子を示す。図 3.9 に示すように、アセトアミノフェン未飽和溶液内に多数の散乱粒子が存在することが明らかとなった。以上の結果より、多数の輝点状の散乱を観測できていることから、肉眼では溶解していたとしても、目に見えないレベルで残留粒子が多数存在していることが分かった。

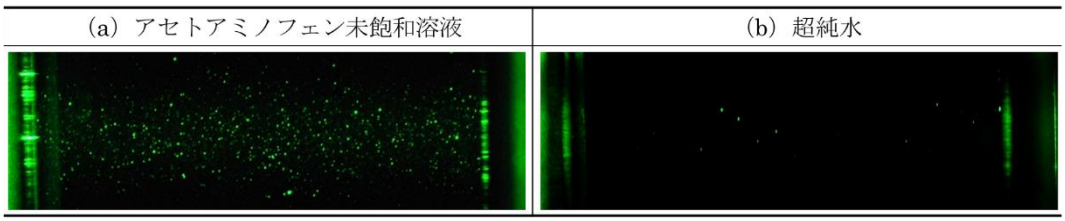


図 3.9　アセトアミノフェン未飽和溶液と超純水における散乱の様子

未飽和溶液において観測できる輝点状の散乱の正体について考察する。アセトアミノフェン I 形粉末（純度：98%）を超純水に加え、濃度 32 mg/ml（飽和点：50°C）の溶液を調製し、溶解温度を 70°C で固定し、溶解時間を 1、3、6、13 時間と変化させたときのアセトアミノフェン未飽和溶液における散乱の様子を図 3.10 に示す。図 3.10 に示すように、溶解

時間の増加とともに、輝点状の散乱は減少していく傾向であった。以上の結果より、残留粒子は溶解時間の増加とともに徐々に溶解（微細化）していくことが示唆された。そこでまず輝点状の散乱の正体として疑われるのが、出発原料がⅠ形であることをふまえると、Ⅰ形の溶け残りである。長時間溶解によりⅠ形の溶解（微細化）が進んだために、輝点状の散乱が減少していったのではないかと考えられる。3.2 節においてⅠ形が自然核発生する、さらに超音波照射により一定確率でⅠ形が結晶化してしまう理由として、肉眼では溶解していたとしても、完全に溶解しきれずにⅠ形の微小結晶核が残存してしまい、結果としてそれが起因となりⅠ形が結晶化するのではないかと考えられる。一方で、図 3.9(a)に示すような多数の輝点状の散乱が観測されたアセトアミノフェン未飽和溶液を冷却し、過飽和状態（$\sigma_{II} = 2.9$）としてから 3 日以上経過しても結晶化しないサンプルも存在することを確認している。ここで、アセトアミノフェンの臨界半径は計算により数 Å 程度であると報告されている[15]。よって輝点状の散乱がⅠ形の溶け残り（サイズが 532 nm 以上）であると仮定すると、未飽和の時点で、臨界半径を大幅に超えていることから、過飽和にした時点でⅠ形が必ず結晶化するはずである。よって、輝点状の散乱はⅠ形の溶け残りである可能性は低いと考えられる。そこで、次に出発原料のアセトアミノフェンⅠ形粉末の純度が 98%であることから、輝点状の散乱の正体として原料中に含まれている不純物の可能性を疑った。3.3.3 において輝点状の散乱の正体が原料中に含まれる不純物であるか検証する実験を行った。

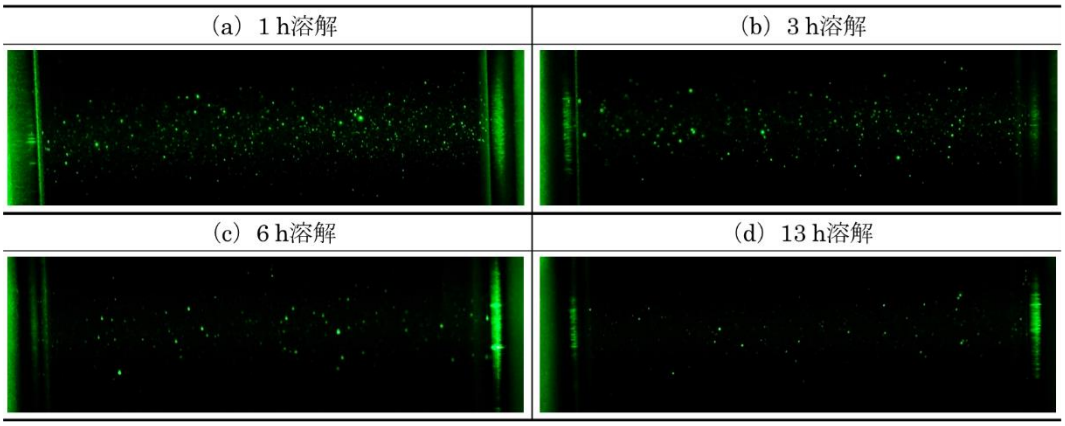


図 3.10　アセトアミノフェン未飽和溶液における散乱の溶解時間依存性

3.3.3　出発原料の純度とアセトアミノフェン未飽和溶液内の粒子状態の関係

これまでの実験で使用していた原料は図 3.11(a)に示すような粉末状のⅠ形結晶で純度は 98%であった。この原料の再結晶化を行い、不純物の低減及び純度の向上を試みた。アセトアミノフェンⅠ形粉末（純度：98%）を超純水（120 ml）に加え、濃度 40 mg/ml（飽和点：58°C）の溶液を調製し、温度 70°C に加熱し溶解させ、3 時間後にシリンジと粒子保持能 0.2 μm のフィルターを用いて濾過を行った。この溶液を 0°C まで急冷させることにより、Ⅰ形を結晶化させた。Ⅰ形結晶を溶液中から取り出し乾燥させたもの図 3.11(b)に示す。このよ

うに純度 98%のⅠ形粉末を一度水溶液から再結晶化させて作製したⅠ形結晶を本実験では精製有の原料として使用した。

2 種類の原料として①精製無のⅠ形粉末（純度：98%）と②精製有のⅠ形結晶（純度：>98%）を用いてアセトアミンフェン水溶液（濃度 32mg/ml、飽和点 50°C）を調製した。温度 60°C に加熱し 3 時間かけて溶解させた後、溶液を光学セルに分注し、直後にレーザー光を入射することで、アセトアミノフェン未飽和溶液の散乱測定を行った。散乱の様子を図 3.12 に示す。図 3.12 に示すように、同じ溶解温度・溶解時間であるにもかかわらず、原料として精製有のⅠ形結晶（純度：>98%）を用いることで、輝点状の散乱は大幅に低減することが明らかとなった。以上の結果より、未飽和状態で観測できる輝点状の散乱は、原料中に含まれている不純物である可能性が示唆された。また、溶解時間の増加とともに輝点状の散乱が減少していたことから、溶解性の不純物であると考えられる。

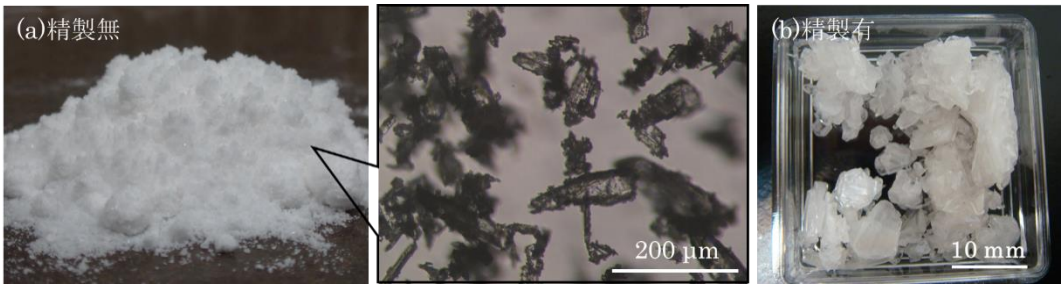


図 3.11　出発原料（Ⅰ形）の結晶写真：(a)精製無、(b)精製有

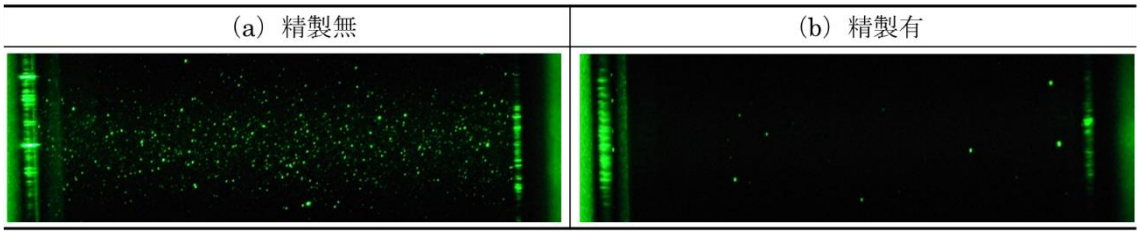


図 3.12　精製の有無とアセトアミノフェン未飽和溶液における散乱

3.3.4　精製原料使用時における過飽和度とⅠ形自然核発生確率の関係

3.3.3 で述べたように、輝点状の散乱は、原料中に含まれる不純物であることが示唆されたが、この不純物がⅠ形の結晶化に影響を与えるかどうかはまだ明らかとなっていない。そこで、出発原料として精製Ⅰ形原料を使用し、3.2.2 と全く同じ実験を行い、過飽和度と結晶多形の関係を調査した。本実験では、精製Ⅰ形原料を一度に大量に得ることを目的として、精製Ⅰ形原料の作製手順を 3.3.3 で示した方法から変更したので、その詳細を以下に記載する。アセトアミノフェンⅠ形粉末（純度：98%）を超純水（1 L）に加え、濃度 40 mg/ml（飽和点：58°C）の溶液を調製し、温度 60°C に加熱し 30 分かけて溶解させた。次に、粒子保持能 0.8 μm の濾紙をセットした吸引濾過瓶に溶解させたアセトアミノフェン水溶液を流し入れ、真空ポンプを用いて吸引濾過を行った。その後、溶液を 0°C まで急冷させることに

より、Ⅰ形を結晶化させた。図 3.13 はⅠ形結晶を溶液中から取り出し乾燥させたものを示しており、本実験以降はこのⅠ形結晶を精製Ⅰ形原料として使用した。

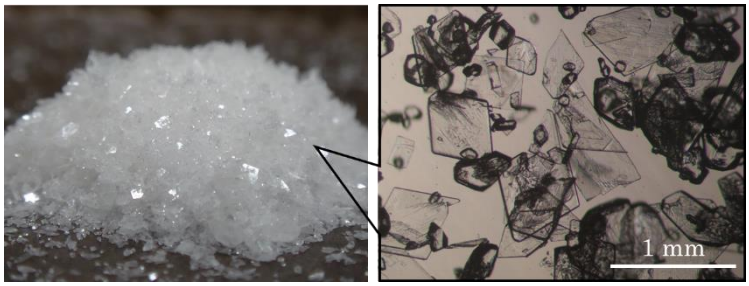


図 3.13　新たに作製した精製Ⅰ形原料の結晶写真

出発原料として精製Ⅰ形原料を使用し、複数の過飽和条件のアセトアミノフェン水溶液（過飽和度$\sigma_I = 0.8 - 14.8$（$\sigma_{II} = 0.4 - 12$））を調製した場合の結晶化確率を図 3.14 に示す。3.2.2 で述べたように、精製無の原料を使用した場合、$\sigma_I \geq 4.3$（$\sigma_{II} \geq 3.3$）ではⅠ形の自然核発生が起きていたのに対し、精製Ⅰ形原料を用いることで、$\sigma_I = 10$（$\sigma_{II} = 8$）という高過飽和条件までⅠ形の自然核発生を抑制できることが明らかとなった。以上の結果より、原料中の不純物はⅠ形の結晶化に大きく影響していることが明らかとなった。よって、Ⅱ形を高確率で結晶化制御するには、原料中の不純物の低減が非常に重要な要素であるといえる。ただし、図 3.12(b)に示すように、精製Ⅰ形原料を使用した場合でも未飽和溶液において微量の輝点状の散乱が確認できるとともに、図 3.14 で示すように、$\sigma_I = 12.3 - 14.8$（$\sigma_{II} = 10 - 12$）においてⅠ形の自然核発生が確認できることから、精製Ⅰ形原料中にも微量の不純物が残存していると考えられる。そこで 3.3.5 では、出発原料として精製Ⅰ形原料を用いるとともに、溶解後に濾過を導入することで、さらなる溶解プロセスの改善を行った。

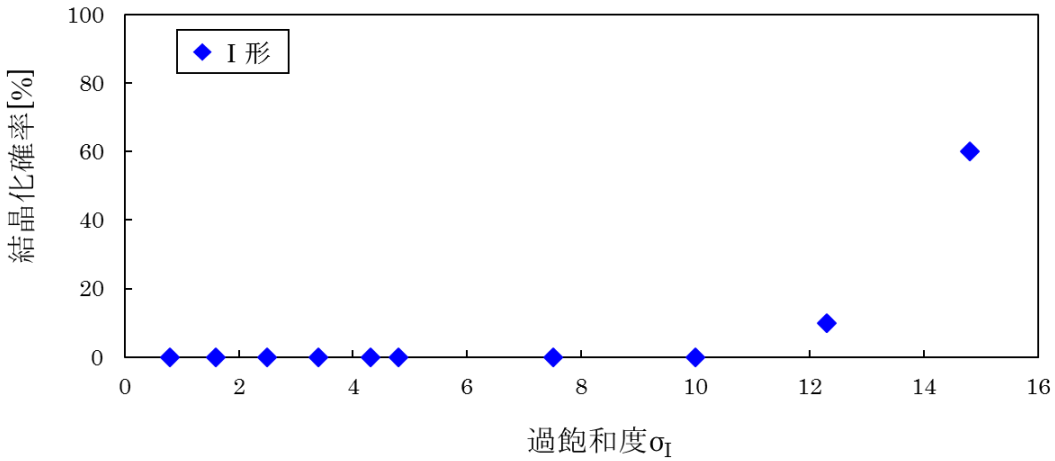


図 3.14　精製Ⅰ形原料使用時におけるⅠ形自然核発生確率の過飽和度依存性

3.3.5　溶解プロセスの最適化

Ⅰ形の結晶化の要因となる溶解プロセスにおける残留粒子（不純物）をできるだけ除去するために、精製Ⅰ形原料を使用したうえで、溶解直後に濾過の導入を検討した。アセトアミノフェン精製Ⅰ形原料を超純水に加え、アセトアミノフェン水溶液（濃度：32mg/ml、飽和点：50°C）を調製し、温度 60°C に加熱し 3 時間かけて溶解させた。次に、溶液を濾過（粒子保持能：0.2 μm）した後、光学セルに分注し、直後にレーザー光を入射してアセトアミノフェン未飽和溶液の散乱測定を行った。図 3.15 は散乱の様子を示しており、3.3.3 で観察されたような輝点状の散乱は全く確認できなかった。以上の結果より、出発原料として精製Ⅰ形原料を使用し、かつ溶解直後に濾過の導入を行うことで、Ⅰ形の結晶化の要因となる残留粒子の大幅な低減に成功した。そこで、3.4 節ではこの残留粒子を除去した溶液を用いて、再度アセトアミノフェン過飽和水溶液の作製を行い、超音波照射によるⅡ形結晶化制御の可能性を検討した。

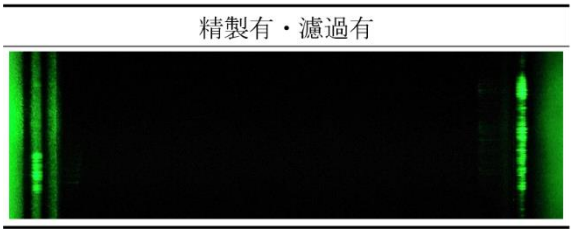


図 3.15　精製Ⅰ形原料使用及び濾過導入後のアセトアミノフェン未飽和溶液における散乱

3.4　溶解プロセス最適条件下での超音波照射による アセトアミノフェンの結晶化

3.4.1　溶解プロセス最適条件下での過飽和度とⅠ形自然核発生確率の関係

アセトアミノフェン精製Ⅰ形原料を超純水に加え、濃度 12-108 mg/ml の溶液を調製し、温度 60-90°C に加熱し 3 時間かけて溶解させた後、濾過（粒子保持能：0.2 μm）を行った。次に、1 ml バイアル瓶に 0.8 ml ずつ溶液を分注し（各濃度 12 サンプル）、これを冷却速度 3°C /h で 0°C まで冷却して過飽和状態（過飽和度$\sigma_I = 0.8 - 14.8$（$\sigma_{II} = 0.4 - 12$））に保った。そして、0°C 到達後 3 日間静置させた後の結晶化確率を調査した。結晶化確率は、準備した 12 サンプルに対して、結晶が析出したサンプル数の割合で定義した。本実験の概要を図 3.16 に示す。

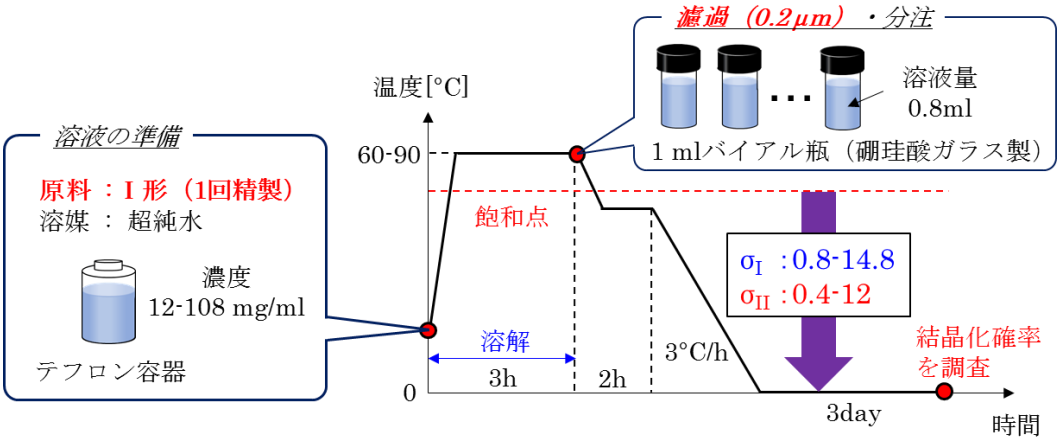


図 3.16　本実験の概要

各過飽和条件における結晶化確率を図 3.17 に示す。いずれの過飽和条件($\sigma_I = 0.8 - 14.8$)においても、3.2.2 や 3.3.4 で見られたようなⅠ形の自然核発生は全く確認できなかった。よって出発原料として精製Ⅰ形原料を用い、さらに濾過を導入することで、非常に高い過飽和条件までⅠ形の自然核発生を抑制できることが明らかとなった。さらに、超音波照射等の刺激を与えない場合、46 日間過飽和状態を維持し続けても結晶化は全く起きないことを確認している。先行研究においてアセトアミノフェン水溶液の濃度が 35 mg/ml より高い場合、0°C に冷却したときⅠ形が結晶化するという報告[16]もあることから、本研究においてこれまでにない高い過飽和条件が実現したといえる。また、アセトアミノフェンは溶解プロセスを適正に行った場合、準安定領域が非常に広くなり、いくら高過飽和にしても自然核発生が起きないことから、強制的にⅡ形の結晶化を誘起する手法の重要性も明らかとなった。

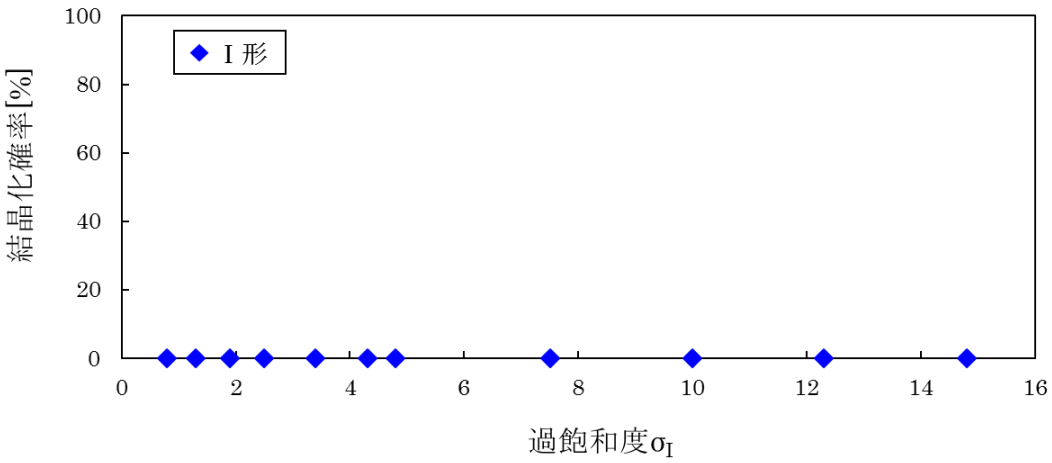


図 3.17　精製Ⅰ形原料使用及び濾過導入時におけるⅠ形自然核発生確率の過飽和度依存性

3.4.2　超音波照射によるアセトアミノフェンの結晶化

3.4.1 の 0°C 到達約 7 日経過後の未析出サンプル（$\sigma_I = 0.8 - 14.8$（$\sigma_{II} = 0.4 - 12$））に対して超音波照射を行い、Ⅱ形結晶化の可能性を検討した。各過飽和条件につき 5 サンプルずつ超音波照射を行った。超音波照射条件は、周波数が 45 kHz で、10 秒照射-10 秒待機を繰り返す断続条件とし、超音波照射中もしくは 10 秒待機期間中において結晶化を肉眼で確認した場合はすぐに断続照射を停止した。この断続照射は、最長で 300 秒まで続けた。

超音波照射による結晶化確率を図 3.18 に示す。$\sigma_I = 0.8 - 1.3$（$\sigma_{II} = 0.4 - 0.9$）では超音波を照射しても全く結晶化が見られなかったのに対し、$\sigma_I \geq 1.9$（$\sigma_{II} \geq 1.4$）では結晶化の誘起が確認された。溶解プロセスの最適化を行った場合、$\sigma_I = 10$（$\sigma_{II} = 8$）において 1 サンプルだけ三水和物が結晶化したものの、超音波照射することでいずれの過飽和条件（$\sigma_{II} = 1.4 - 12$）においても非常に高確率でⅡ形を結晶化できることが分かった。Sudha らは、アセトアミノフェン水溶液を急冷した際の過飽和度と結晶化多形の関係を調査しており、低過飽和条件ではⅠ形、中過飽和条件ではⅡ形、高過飽和条件ではⅢ形が結晶化しやすくなると報告している[17]。また、アセトアミノフェン以外の材料においても過飽和度は結晶化する多形を決定する重要な因子であると報告されている[10–12]。一方で、アセトアミノフェン過飽和水溶液に対し超音波を照射したところ、$\sigma_{II} = 1.4 - 12$という非常に広い過飽和領域にわたってⅡ形の結晶化が優先的に誘導されることから、超音波照射はⅡ形の結晶化に非常に有効な手段であることを示唆している。図 3.19 に各過飽和条件において得られたⅡ形結晶の顕微鏡写真を示す。図 3.20 に最も低い過飽和条件（$\sigma_{II} = 1.4$）と最も高い過飽和条件（$\sigma_{II} = 12$）から得られたⅡ形結晶を拡大した写真を示す。結晶形状については、低過飽和条件では針状であるのに対し、高過飽和条件では長方形状に変化していくことが明らかとなった。一般的に、結晶形状は結晶の有する各面の成長速度の差異によって決定される[18]。Ristic らは、異なる過飽和度のアセトアミノフェン水溶液からⅠ形結晶を成長させた時、成長する支配的な面が過飽和度により変化することを示し、過飽和度により成長後のⅠ形の結晶形状が異なることを報告している[19]。よって今回超音波照射により作製したⅡ形結晶においても、過飽和度の違いにより、結晶の支配的な成長方向に変化があったため、過飽和度の増加とともに結晶形状が針状から長方形状に変化したのではないかと考えられる。また、図 3.20 に示すように、低過飽和から得られたⅡ形結晶と比べて、高過飽和から得られたⅡ形結晶の方が結晶内部に黒色部分で示される欠陥領域を数多く有することが明らかとなった。高過飽和ほど欠陥領域が形成されやすくなる理由の一つは、Ⅱ形結晶の成長速度が原因であると考えられる。本研究室において福喜多は、Ⅱ形結晶中への欠陥形成過程を確認するために、アセトアミノフェンⅡ形結晶成長のその場観察を、種結晶法を用いて行っている。結晶欠陥の形成と成長速度の関係を調査したところ、高速成長時に結晶欠陥が形成され、低速成長時に結晶欠陥が消失すると報告している[20]。よって、高過飽和ほどⅡ形結晶は高速成長するため、過飽和度が増加するにつれて図 3.20(b)に示されるような欠陥領域が多数形成されたのではないかと考えられる。

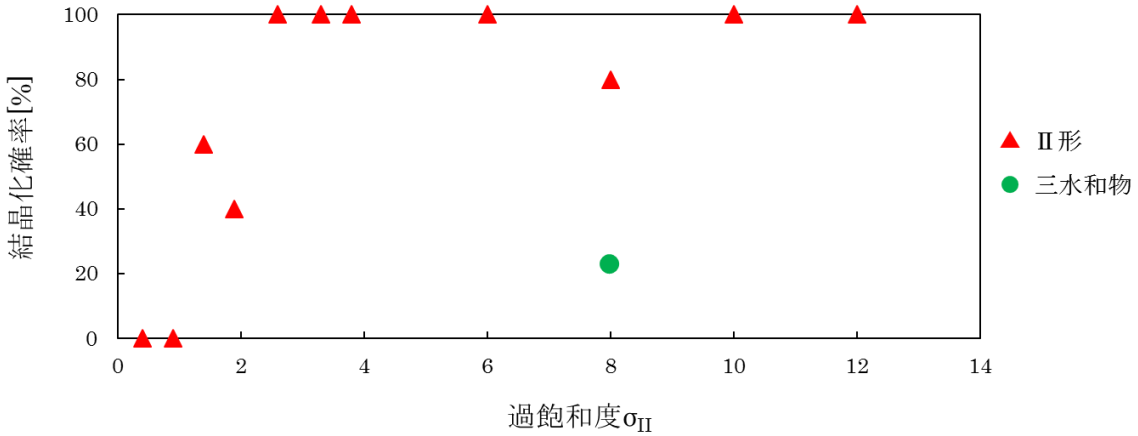


図 3.18　超音波照射による結晶化確率の過飽和度依存性

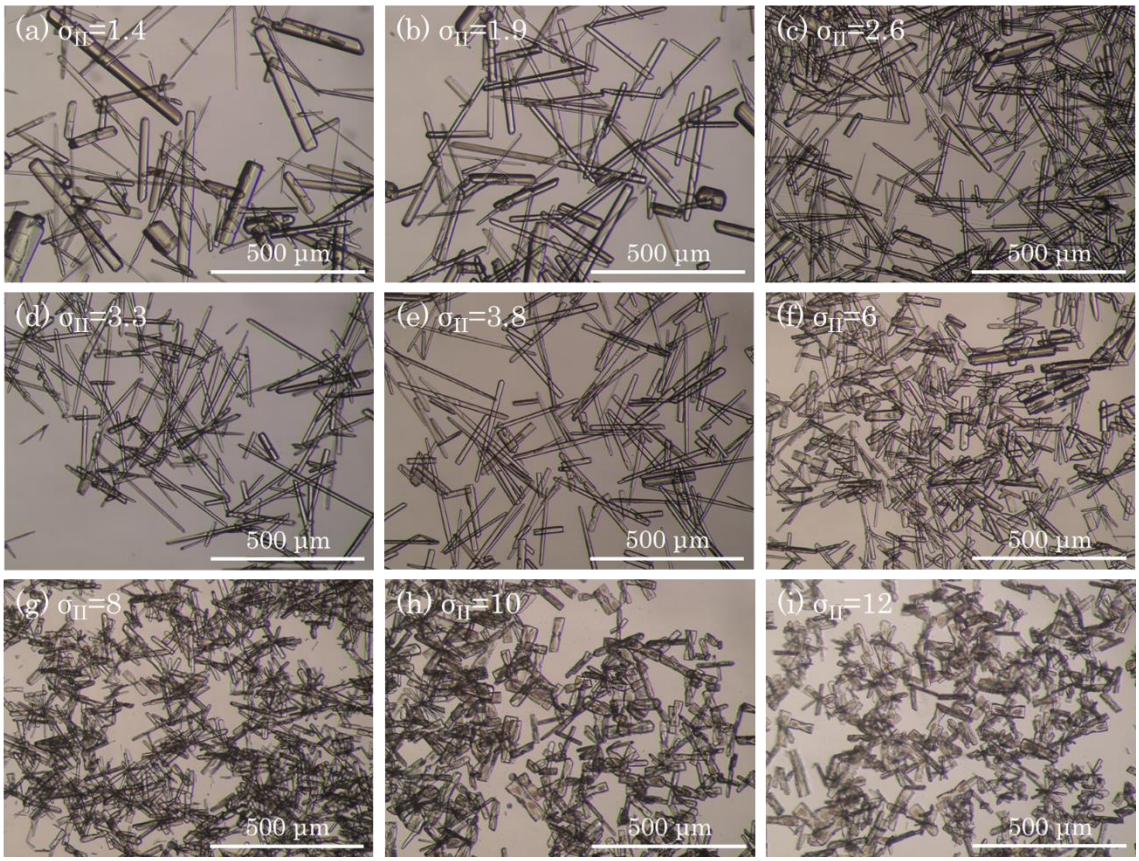


図 3.19　各過飽和条件において超音波照射により得られたⅡ形結晶

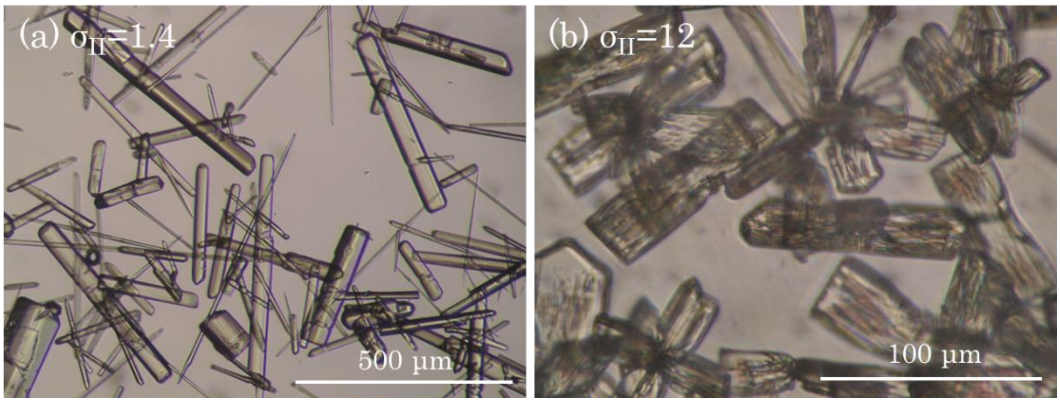


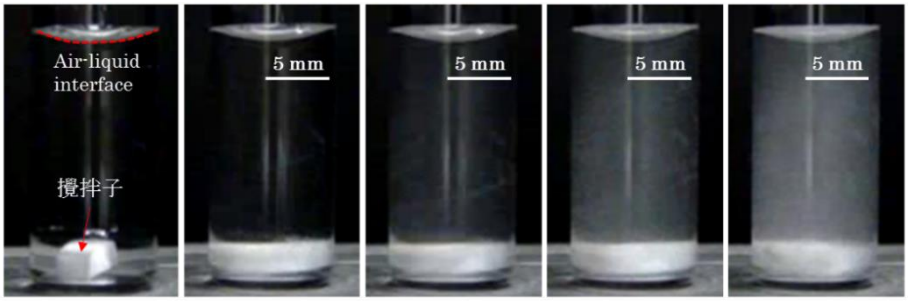
図 3.20　低過飽和条件及び高過飽和条件から得られたⅡ形結晶の拡大写真
(a) 低過飽和（$\sigma_{II} = 1.4$）、(b)高過飽和（$\sigma_{II} = 12$）

3.4.3　超音波周波数依存性

これまでの実験では超音波周波数として 45 kHz を用いてきた。本実験では、超音波周波数（28、45、100 kHz）をパラメータとし、Ⅱ形結晶化制御の可能性を検討した。アセトアミノフェン精製 I 形原料を超純水に加え、濃度 40 mg/ml の溶液を調製した。温度 70°C に加熱し溶解させ、3 時間後に濾過（粒子保持能：0.2 μm）を経て、複数の 1 ml バイアル瓶に 0.8 ml の溶液を分注した。これを冷却速度 3°C /h で 0°C まで冷却して過飽和状態（$\sigma_{II} = 3.8$）に保った。0°C 到達後約 2 日経過した溶液に対して、10 秒照射-10 秒待機を繰り返す断続条件にて超音波（周波数：28、45、100 kHz）を照射した。この断続的な照射は、超音波照射中もしくは 10 秒待機期間中において肉眼で結晶化を確認した場合はすぐに停止し、最長で 800 秒まで続けた。比較用に超音波照射以外の結晶化方法として、容器内に攪拌子を入れて磁気スターラーで溶液を攪拌することにより結晶化を誘起できないか試みた。この攪拌も肉眼で結晶化を確認後すぐに停止した。サンプルは各条件につき 9-10 サンプルずつ用意した。

以下に実験結果についてまとめる。0°C 到達後約 2 日経過した時点において、自然核発生は全く見られなかった。攪拌を行った場合、攪拌開始数秒後には溶液中で結晶化が誘起されるのを確認した（図 3.21）。図 3.22 に得られた結晶の顕微鏡写真及び粉末 X 線回折パターンを示す。図 3.22 に示すように、攪拌により得られた結晶は平板状の結晶形状を有しており、粉末 X 線回折測定の結果 I 形であることを確認した。一方、超音波照射した場合、超音波周波数により結晶化確率に大きな違いがあることが分かった。低周波数（28、45 kHz）の場合、結晶化が高確率で誘起されることを確認した。図 3.23 に超音波照射（周波数 45 kHz）により結晶化が誘起される様子を示す。また、図 3.24 に低周波数（28、45 kHz）の超音波照射によって得られた結晶の顕微鏡写真と粉末 X 線回折パターンを示す。図 3.24 に示すように、超音波周波数によらず、得られた結晶は針状の結晶形状を有しており、粉末 X 線回折測定の結果Ⅱ形であることを確認した。一方、高周波数（100 kHz）の場合、結晶化

は全く誘起されなかった。以上の結果は、溶解プロセスを適切に行った溶液に対して、単に刺激を与えれば容易にⅡ形が結晶化するのではなく、結晶多形制御には結晶化方法が極めて重要な要素であり、超音波照射がⅡ形の結晶化に有効であることが改めて示された。また、超音波周波数を最適化することも極めて重要であり、Ⅱ形の結晶化には低周波数（28、45 kHz）の超音波が有効であることが明らかとなった。図 3.25 に各条件における結晶化確率をまとめた結果を示す。



(a) Before nucleation　(b) 0 s　(c) 1.5 s　(d) 3.0 s　(e) 4.5 s

図 3.21　攪拌による結晶化の様子（核発生直後を 0 s とする）

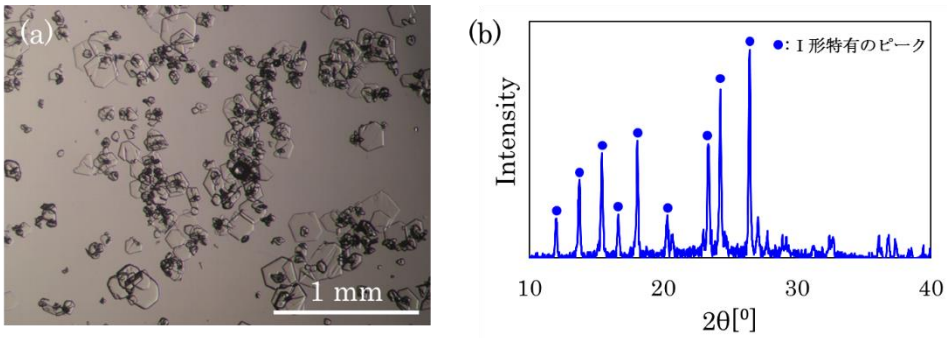
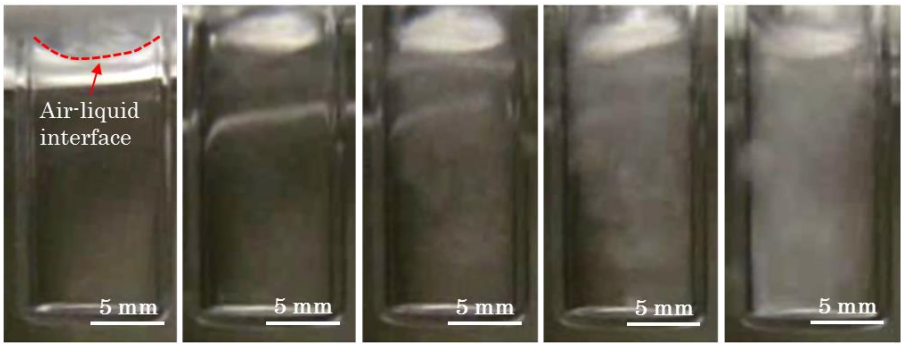


図 3.22　攪拌により得られた結晶：(a)顕微鏡写真、(b)粉末 X 線回折パターン（青丸印：Ⅰ形特有のピーク）



(a) Before nucleation　(b) 0 s　(c) 0.6 s　(d) 0.9 s　(e) 1.2 s

図 3.23　周波数 45 kHz の超音波照射による結晶化の様子（核発生直後を 0 s とする）

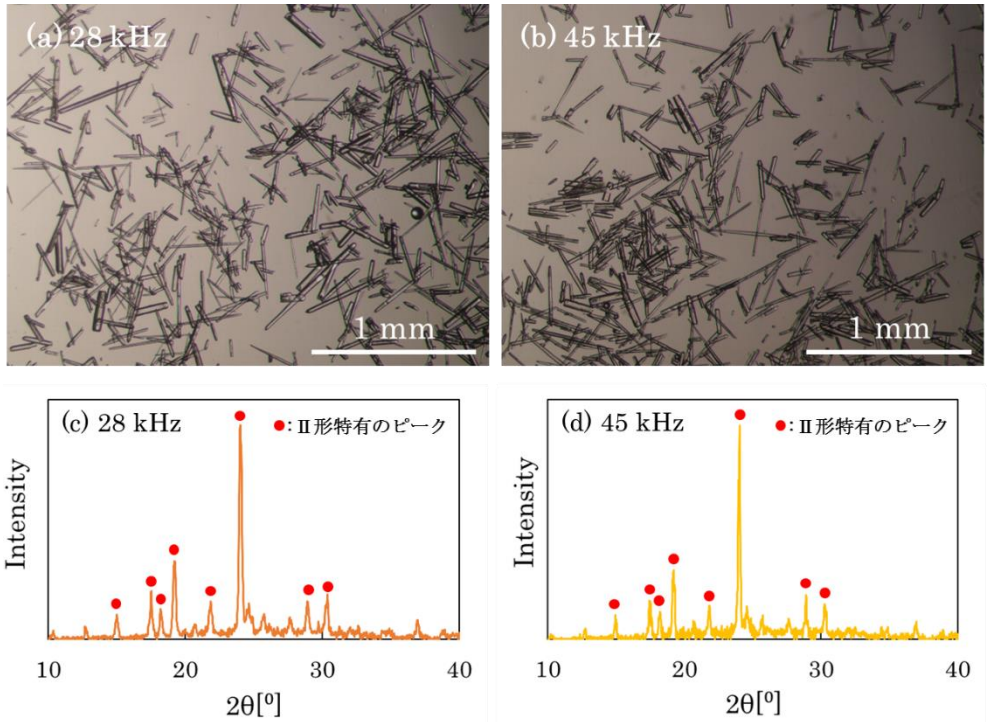


図 3.24　超音波照射により得られた結晶写真と粉末 X 線回折パターン（赤丸印：Ⅱ形特有のピーク）

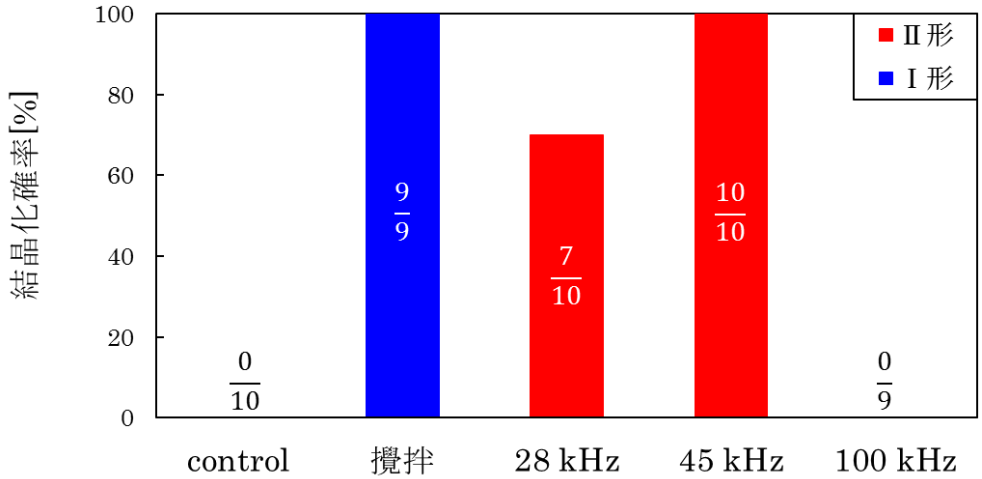


図 3.25　攪拌及び超音波照射（28、45、100 kHz）による結晶化確率

低周波数（28、45 kHz）の超音波照射において核発生が誘起され、高周波数（100 kHz）の超音波照射において核発生が誘起されない理由について考察する。一般的に、周波数が高くなるほど、液中に発生するキャビテーションバブルのサイズは減少し、キャビテーションバブルの数は増加することが知られている[21–23]。このことは、超音波の周波数が高くなるほど、圧力変動の周期が短くなること及び波の腹の数が増加することに起因している。こ

こで、超音波によって結晶化が誘起されるメカニズムとして、Dodds らによって Segregation Model が提唱されている[24]。拡散理論においては、二種類の混合物が圧力勾配条件下にさらされると、二つの内軽い方は低圧領域側に向かって押し出される[25]。キャビテーションバブル圧壊によって生じた圧力勾配は、溶液中の軽いもの（分子）を重いもの（分子の集合体であるクラスター）から分離し、結果としてクラスター同士の凝集などが起き、結晶化が誘起されると述べられている。キャビテーションバブルのサイズが小さい程、気泡圧壊時の圧力は低くなるため、圧力勾配も生じにくく、上記で示した効果が小さくなると考えられる。よって、高周波数の超音波照射の場合、結晶化が誘起されにいと考えられる。また他の要因として、以下が考えられる。超音波照射と同様にキャビテーションバブルが発生するフェムト秒レーザー照射は、様々な材料において結晶化を誘起するのに有効であることが明らかとなっている[26–28]。フェムト秒レーザーを用いた結晶化技術の場合、結晶化が誘起されるメカニズムとして、バブル周囲において溶質分子を集めることで高濃度領域を形成するためであると報告されている[29]。以上のことから、高周波数の場合、発生するバブルのサイズが小さくなり、結果として集めることのできる溶質分子の数も減ってしまうため、結晶化が誘起されにくいと考えられる。

次に、超音波照射によりⅡ形が核発生する理由について述べる。池田は、フェムト秒レーザー照射結晶化技術によるアセトアミノフェンの結晶多形制御に取り組み、溶液中に残した気泡の位置からⅡ形の結晶化が進むことを発見した[30]。さらに、池田はバブルが内包する気体の種類に着目し、アセトアミノフェン過飽和水溶液中に酸素ガスとアルゴンガスを用いてバブリングを行い、気体の種類と結晶多形の関係を調査した[31]。その結果、アルゴンガスをバブリングした条件ではⅠ形のみが結晶化したのに対し、酸素ガスをバブリングした場合、Ⅱ形が優先的に結晶化することを見出した。また、酸素気泡は負に帯電し、アルゴン気泡は正に帯電することを確認したことから、気泡の帯電性等の界面状態がⅡ形の結晶化に有効に働いたのではないかと考察している。また、 Bučar らは、アセトアミノフェンの結晶化プロセスに超音波を使用しているが、Ⅱ形は結晶化しなかったと報告している[32]。我々のグループが超音波照射はⅡ形の結晶化に有効であると報告した[33]後に、Bhangu らは、貧溶媒と超音波を組み合わせる手法をアセトアミノフェンに適用している。その結果、超音波を照射しない場合はⅠ形のみしか結晶化しないのに対し、超音波を照射することでⅡ形の結晶化も誘起されると報告している[34]。ただし、Ⅰ形も同時に結晶化しており、Ⅱ形の割合は全体の 40%以下となっている。以上のことから、単純に超音波を照射してもⅡ形が結晶化するのではなく、溶解プロセスにおいて溶液状態を制御し、かつ適切な超音波条件で超音波を照射することで、完全なⅡ形の結晶化制御が実現すると考えられる。

3.5　溶液中におけるⅡ形結晶の安定性

3.5.1　溶液中においてⅠ形・Ⅱ形結晶が共存した場合の経時変化

先行研究において、Ⅱ形結晶は溶液中で 30 分のみ安定で、次第に溶液媒介相転移によりⅠ形へ転移するという報告例もある[17]。ここでⅡ形が溶液中で安定に存在するためには、①Ⅰ形が混じることなく選択的にⅡ形が結晶化する、②Ⅱ形結晶化後新たにⅠ形が核発生しない、の 2 点を満たす必要がある。つまり溶液中でⅠ形が微量でも混じってしまうとⅡ形は安定に存在できないといえる。このことを実験的に示したのが図 3.26 である。図 3.26 は 20°C 環境下で、Ⅰ形結晶とⅡ形結晶を意図的に混在させた時の経時変化をその場観察したものである。図 3.26 に示すように、時間とともにⅡ形結晶の溶解及びⅠ形結晶の成長が徐々に進み、3 時間程度で溶液中の結晶は全てⅠ形になることが確認された。この現象は溶液媒介相転移と呼ばれ、準安定形を制御するためには防がなければならない問題である。

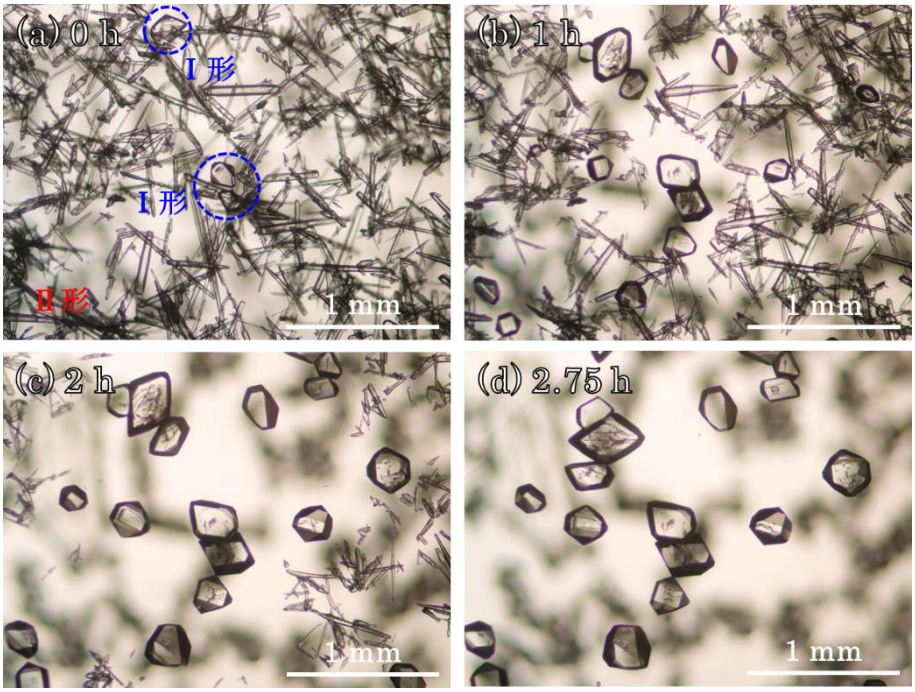


図 3.26　アセトアミノフェンⅠ形とⅡ形間の溶液媒介相転移（20°C）

また、溶液中でⅠ形結晶とⅡ形結晶を接触させた時の経時変化を図 3.27 に示す。図 3.27 に示すように、接触部分からⅡ形結晶を覆うようなⅠ形結晶の成長が観察され、接触してから 4 時間程度で完全にⅠ形結晶で覆われることを確認した。これはⅠ形結晶とⅡ形結晶が共存している場合、Ⅱ形結晶の溶解が進行するため、Ⅱ形結晶近傍の溶液濃度は他の部分と比較して高濃度になっていると考えられる。よってⅠ形に対する過飽和度も高くなっていることから、Ⅱ形結晶の溶解と比較してⅠ形結晶の成長速度が速くなってしまうことから生じたものと考えられる。以上の結果より、溶液中でⅠ形結晶とⅡ形結晶が共存した場合、Ⅰ形結晶の成長とⅡ形結晶の溶解が進み最終的にⅡ形結晶が完全に消滅してしまう場合と、

Ⅰ形結晶とⅡ形結晶の距離が非常に近い時に限り、Ⅱ形のもとの結晶形状を維持したままⅠ形結晶に徐々に覆われて不透明化しⅠ形へ転移するという 2 種類のパターンがあることが明らかとなった。いずれのパターンにおいても、20°C 溶液中でⅠ形結晶とⅡ形結晶が共存した場合、数時間程度でⅠ形結晶へ転移することが確認された。

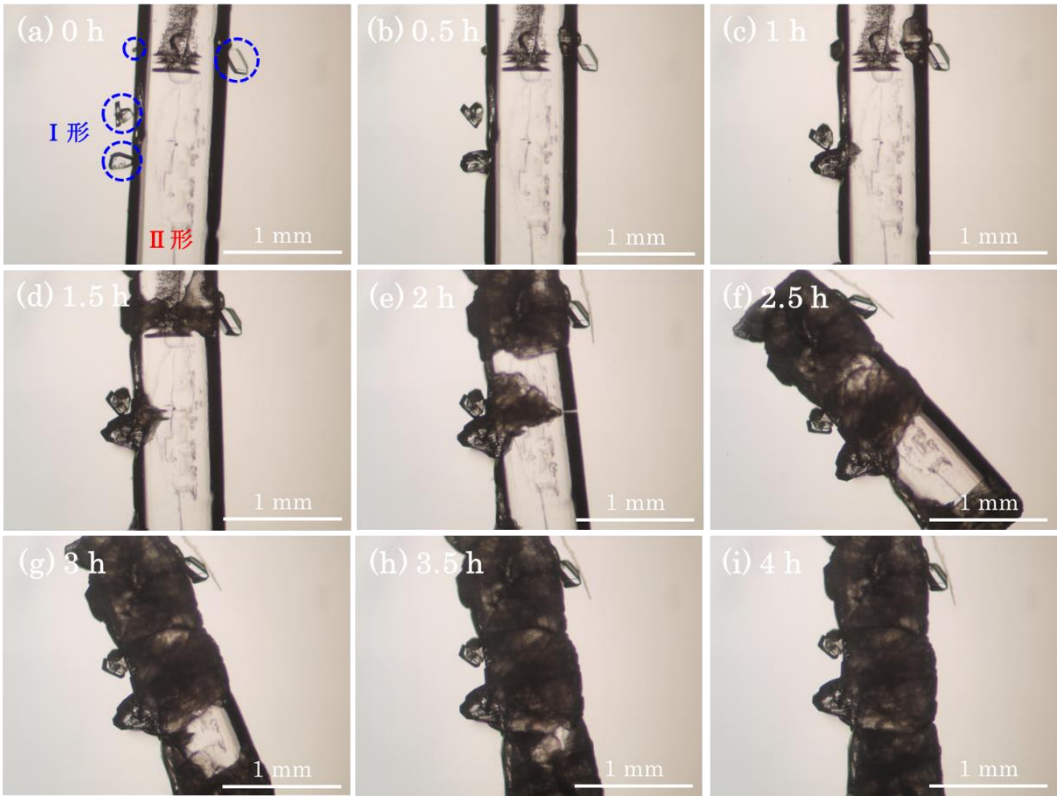


図 3.27　アセトアミンフェンⅠ形とⅡ形を接触させた時の経時変化（20°C）

3.5.2　溶液中におけるⅡ形結晶の安定性評価

0°C 環境下で超音波照射により得られたⅡ形結晶を溶液中のまま室温（もしⅠ形結晶が混じっているのであれば溶液媒介相転移が進行し数時間でⅠ形に転移する温度）に取り出し、Ⅱ形結晶を溶液中のまま 5 日間保持し続けた。

図 3.28(a)-(f)はⅡ形結晶を溶液中のまま 0°C から室温へ取り出した後の経時変化である。室温に取り出したことによる温度上昇に伴い、一部のⅡ形結晶の溶解が進行した。図 3.28(d)は室温取り出し 3 日後の様子であるが、Ⅱ形結晶の溶解が完全にストップしている様子が確認され、溶液中に残っている結晶を確認したところ、Ⅱ形の特徴である針状結晶であった。このまま 5 日後まで保持し続けたとしても、溶液中に残っているのは針状結晶であった。次に、この溶液に対して、微量のⅠ形結晶を含む飽和水溶液を添加した後の経時変化を図 3.28(g)-(l)に示す。Ⅰ形結晶添加後、Ⅱ形結晶の溶解が徐々に進行し、6 時間程度で溶液中の結晶は全てⅠ形になっていることを確認した。以上の結果より、超音波照射により得られたⅡ形結晶は、溶液中で約 5 日間もⅡ形結晶のまま保持されていたことから、超音波照射

により選択的にⅡ形が結晶化しており、さらにⅡ形結晶化後新たにⅠ形の核発生が起きていないことが示唆された。よって、本研究で得られたⅡ形結晶は溶液中において安定に存在できることが明らかとなった。

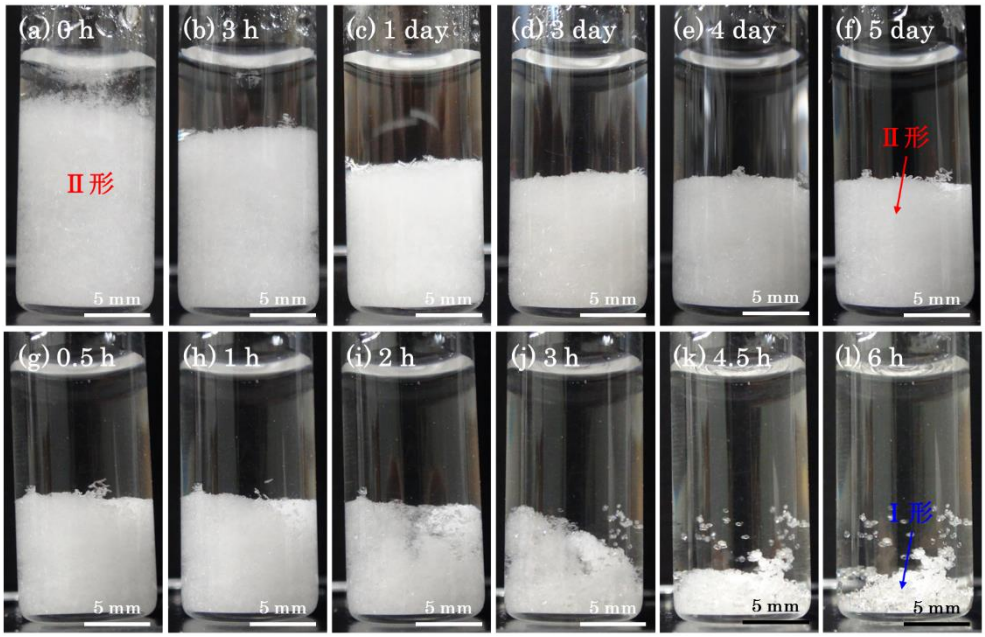


図 3.28　(a)-(f) Ⅱ形結晶室温取り出し後の経時変化、(g)-(l) Ⅰ形結晶添加後の経時変化

3.6　Ⅱ形結晶の経時安定性評価

3.6.1　経時安定性の評価方法

医薬品の承認申請には、経時安定性の試験が必要である。安定性試験とは流通期間中の品質の安定性を確認あるいは推定するために行う試験のことで、長期保存試験・加速試験・過酷試験の 3 つが存在する。表 3.1 に示すように、長期保存試験では、温度：25°C±2°C、湿度：60%RH±5%の条件下で最短 12 ヶ月間保持出来れば薬剤として条件を満たす。また、加速試験においては、温度：40°C±2°C、湿度：75%RH±5%の条件下で最短 6 ヶ月保つことが出来れば試験通過である。その際、申請する包装と同一のものである必要があり、金属缶に入れて試験する例も存在する。過酷試験においては、加速試験よりも過酷な条件下で試験目的に合うように適宜設定した保存期間を満たすことが出来れば通過である。

表 3.1　安定性試験の種類

	長期保存試験	加速試験	苛酷試験
保存条件	温度：25℃±2℃ 湿度：60%RH±5%	温度：40℃±2℃ 湿度：75%RH±5%	通常、加速試験より苛酷な条件で実施
包装	申請するものと同一のもの又はそれに準ずるものとする		原則として包装を除いた状態
承認申請時の最短保存期間	12ヵ月	6ヵ月	試験目的に合うように適宜設定

医薬化合物の結晶を錠剤化する際、通常結晶のサイズを均一にする等の目的で粉砕工程が含まれている。そこで本実験では、超音波照射により得られたⅡ形結晶を粉砕し、粉末状にした状態での経時安定性を評価した。図 3.29(a-b)にⅠ形とⅡ形の粉末 X 線回折パターンを示す。図 3.29(a-b)に示すように、Ⅰ形及びⅡ形はそれぞれ 26.5°(12-2)及び 24°(020)付近に特徴的なピークを有している。Ⅱ形からⅠ形へ転移する場合、24°のピーク強度が減少し、26.5°のピーク強度が増加していく。よって本研究では、図 3.29(c)に示すように、得られた粉末 X 線回折パターンから相対強度比[$P_{II}/(P_I+P_{II})$]を算出し、相対強度比を経時安定性を評価する指標とした。P_I は 26.5°のピーク強度、P_{II} は 24°のピーク強度である。相対強度比が高い程Ⅱ形を維持しており、値が下がるにつれてⅠ形へ転移していることを示している。

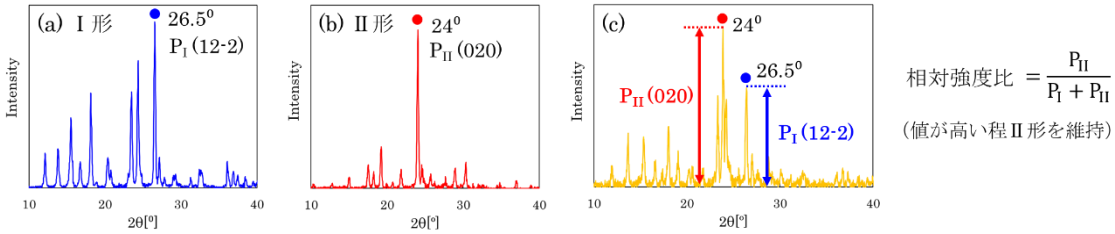


図 3.29　(a) Ⅰ形の粉末 X 線回折パターン、(b) Ⅱ形の粉末 X 線回折パターン、(c)経時安定性を評価する指標の相対強度比の算出方法

また、室温大気中ではⅡ形からⅠ形へ転移に時間を要することから、本実験では多形転移促進条件である加速試験にて経時安定性を評価した。図 3.30 は加速試験のセットアップを示しており、温度 40±2°C、湿度 80%±5%に設定している。ポリスチレン容器内にⅡ形結晶を入れて容器入り口をデュラシールで密閉し、シール容器内に入れて加速試験中で保管した。

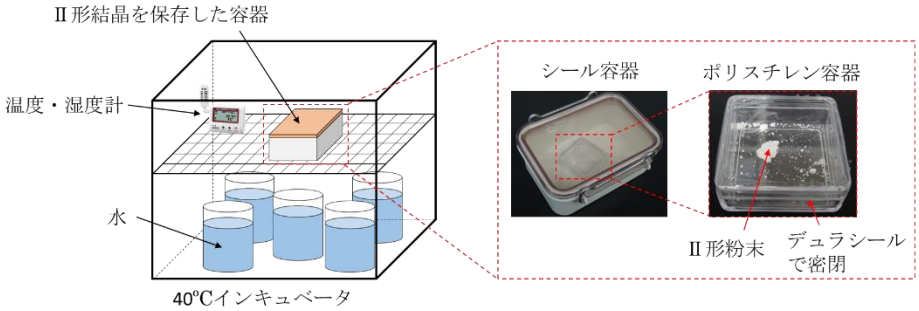


図 3.30　加速試験のセットアップ

3.6.2　加速試験におけるⅡ形結晶の経時安定性

アセトアミノフェン過飽和溶液（$\sigma_{II} = 3.3$）に超音波照射することで得られたⅡ形結晶（7 サンプル）を大気中に取り出し乾燥させた後、メノウ乳鉢と乳棒を使って粉砕し、加速試験中に粉末状のⅡ形結晶を保存した。その後、一定期間ごとに粉末 X 線回折測定を行い経時安定性を評価した。図 3.31 に相対強度比の時間変化を示す。図 3.31 に示すように、全てのサンプルが 1 週間以内にⅠ形へ転移することが明らかとなった。Ⅰ形へ転移した理由は、Ⅱ形結晶内部に含まれる欠陥領域及び粉砕工程が原因であると考えられる。本実験において経時安定性が評価されたⅡ形結晶は 3.4.2 で示したような欠陥領域を一部有している。福喜多は、超音波照射により得られるⅡ形の結晶品質と経時安定性の関係に着目し、低過飽和及び高過飽和からそれぞれ得られる典型的なⅡ形結晶（欠陥領域のない結晶と欠陥領域のある結晶、いずれも as-grown 結晶である）のⅠ形への転移挙動（経時安定性）を加速試験にてラマン分光法を用いて調査している[20]。その結果、欠陥領域のないⅡ形結晶の多くは 166 日間Ⅱ形を維持していたのに対し、欠陥領域のあるⅡ形結晶の多くは 7 日でⅠ形へ転移することを確認している。このことから、Ⅱ形の経時安定性は、結晶欠陥の有無によって大きく異なり、経時安定性の向上には結晶欠陥の低減が重要であることが明らかとなった。一般に、このような欠陥部分には溶媒不純物（溶媒インクルージョン）等の混入があることが知られており、今回作製したⅡ形結晶においても同様の現象が起こっていると考えられる。溶媒インクルージョンとⅡ形の経時安定性の関係については、Mikhailenko らは、Ⅱ形結晶内部に存在する溶媒インクルージョンがⅠ形への転移を引き起こすと報告している[35]。Ⅱ形結晶内部に存在する溶媒インクルージョンがⅠ形への転移を引き起こす理由として、以下が考えられる。Ⅱ形結晶中に溶媒インクルージョンがある場合、インクルージョン部分の溶液濃度はⅡ形の飽和濃度となっていると考えられる。従って、Ⅰ形にとっては過飽和溶液となるため、何らかのきっかけによりⅠ形が核発生する可能性がある。仮にⅡ形結晶内部のインクルージョン部分において、Ⅰ形が結晶化してしまうと溶液媒介相転移により、Ⅱ形はⅠ形へ転移すると考えられる。また、本実験では得られたⅡ形結晶の粉砕を行っているが、Ⅱ形結晶の粉砕の際、溶媒インクルージョンが暴露されるため、Ⅱ形の飽和溶液に対して物理的な刺激が与えられる。3.4.3 で述べたように、攪拌などの刺激によりⅠ形は容易

に結晶化することから、粉砕の際にⅠ形が結晶化し、結果として加速試験雰囲気下の水分などを介してすぐにⅡ形からⅠ形へ転移してしまうと考えられる。また、Ⅱ形結晶の包装次第で加速試験下で経時安定性を伸ばすことは可能であるが、Ⅱ形結晶中の欠陥領域を低減するなどして、さらに経時安定性を向上させる必要がある。

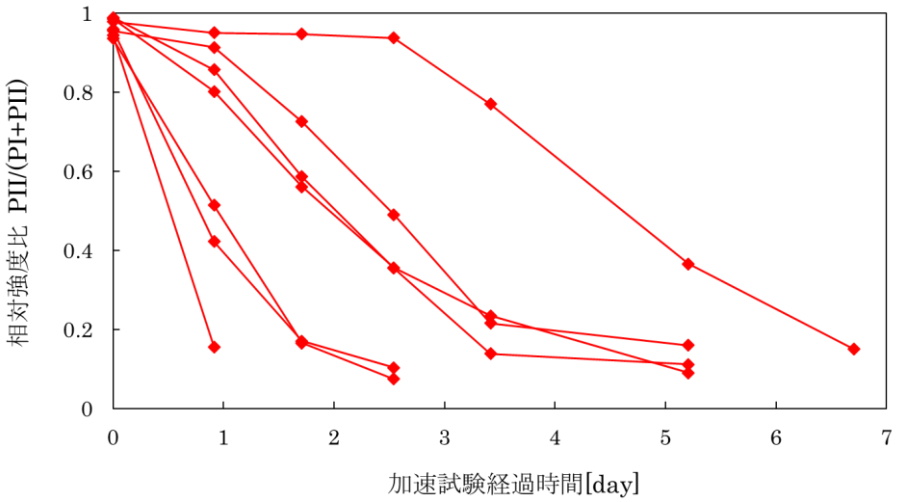
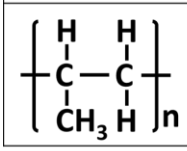
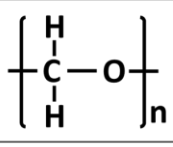
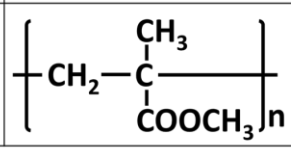
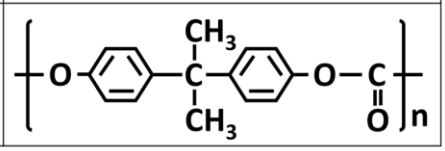


図 3.31　超音波照射により得られたⅡ形結晶の加速試験における経時安定性

3.7　超音波とプラスチック球を組み合わせた新規Ⅱ形結晶化技術の開発

3.4 節においてアセトアミノフェン過飽和水溶液への超音波照射はⅡ形の結晶化に有効であることを明らかにした。これは超音波照射により発生するキャビテーションがもたらす効果であると考えている。よって、アセトアミノフェン水溶液内において発生するキャビテーションを増大させることができれば、より効果的なⅡ形結晶化制御に繋がると考えられる。ここで、液体中への固体粒子添加はキャビテーションを増大するための手段の一つとして知られている[36]。そこで本節では、これまでの従来法の超音波照射によるアセトアミノフェンの結晶化に、固体粒子添加という技術を組み合わせた新規Ⅱ形結晶化制御技術の開発に取り組んだ。本実験では固体粒子として、溶媒である水への溶解がない大橋鋼球社製のプラスチック球（直径 3 mm）を使用した。プラスチック球の材質としてポリプロピレン（PP）、ポリオキシメチレン（POM）、ポリメチルメタクリレート（PMMA）、ポリカーボネイト（PC）を用意した。表 3.2 に各種プラスチックの化学構造を示す。プラスチック球を含む系での超音波照射の模式図を図 3.32 に示す。

表 3.2　各種プラスチックの化学構造

ポリプロピレン	ポリオキシメチレン	ポリメチルメタクリレート	ポリカーボネイト
			

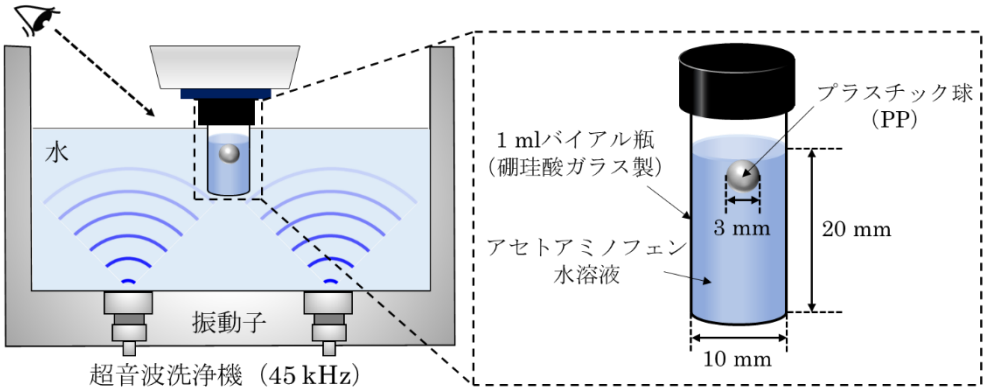


図 3.32　超音波照射の模式図

3.7.1　ポリプロピレン球添加効果

本実験では、プラスチック球の材質として化学構造が複雑でないポリプロピレン（PP）を選択した。アセトアミノフェン精製 I 形原料を超純水に加え、濃度 12-36 mg/ml の溶液を調製した。温度 60°C に加熱し溶解させ、3 時間後に濾過（粒子保持能 : 0.2 μm）を経て、PP 球を入れた 1 ml バイアル瓶に 0.8 ml の溶液を分注した（10 サンプル）。比較対象として、PP 球を入れないサンプルも同時に用意した（10 サンプル）。これを冷却速度 3°C /h で 0°C まで冷却して過飽和状態（$\sigma_{II} = 0.4 - 3.3$）に保った。0°C 到達後約 2 日経過した溶液に対し、10 秒照射-10 秒待機を繰り返す断続条件にて超音波（周波数 45 kHz）を照射した。この断続的な照射は、超音波照射中もしくは 10 秒待機期間中において肉眼で結晶化を確認した場合はすぐに停止し、最長で 800 秒まで続けた。

PP 球を入れた場合、$\sigma_{II} = 1.4, 1.9, 2.6$において、1 サンプルずつⅡ形の自然核発生が確認された。他のサンプルからは 0°C 到達後約 2 日経過した時点においても自然核発生は見られなかった。次に、自然核発生が起きていないサンプルに対して超音波を照射したところ、いくつかのサンプルから結晶化の誘起が確認された。PP 球の有無にかかわらず得られたのは針状結晶（図 3.33(a)及び(c)）と同じであり、それぞれの結晶は粉末 X 線回折測定によりいずれもⅡ形であることを確認した（図 3.33(b)及び(d)）。一方で、PP 球の有無により、Ⅱ形の結晶化確率と induction time（結晶化が誘起されるまでの時間）が大きく異なっていた。図 3.34 に各過飽和度におけるⅡ形結晶化確率を示す。過飽和度が非常に低い時($\sigma_{II} = 0.4$)は、いずれの場合も結晶化は誘起されなかった。$\sigma_{II} = 0.9$の場合、PP 球が無い場合は、結晶化確率が 0%であったのに対し、PP 球を入れておくことで、結晶化確率が 100%まで大幅に向上した。高過飽和領域($\sigma_{II} = 1.4 - 3.3$)では、PP 球がある場合 100%Ⅱ形が結晶化した。PP 球がない場合は、過飽和度の上昇とともに結晶化確率も上昇する傾向で、$\sigma_{II} = 3.3$まで上昇させると 100%となった。図 3.35 は各過飽和度におけるⅡ形結晶化までの induction time を示している。PP 球の有無にかかわらず、過飽和度の上昇とともに induction time は減少していく傾向であった。また、PP 球添加は、induction time のバラ

つきを大幅に低減していた。$\sigma_{II} = 1.4$では PP 球の有無で induction time のエラーバーに重なりがあるため有意な差を示すことができなかったが、$\sigma_{II} = 1.9 - 3.3$では PP 球添加が有意に induction time を短縮していた。$\sigma_{II} = 0.9$の時、PP 球無では結晶化が全く起きなかったのに対し、PP 球添加はⅡ形の核発生を実現させた。言い換えると PP 球は induction time が 800 秒以上かかるものを、562±103 秒程度まで短縮したといえる。以上の結果より、PP 球添加はⅡ形の結晶化確率向上に有効であり、induction time のバラつきの低減及び induction time の短縮にも有効であることが明らかとなった。

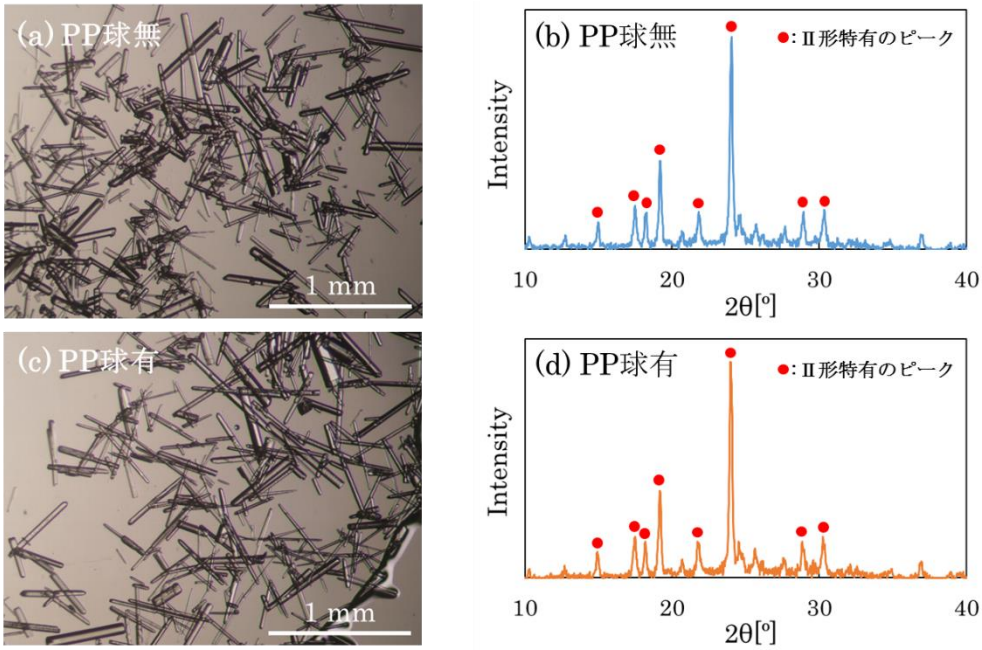


図 3.33　超音波照射により得られた結晶($\sigma_{II} = 2.6$)の顕微鏡写真及び粉末 X 線回折パターン：(a-b)PP 球有、(c-d)PP 球無（赤丸印：Ⅱ形特有のピーク）

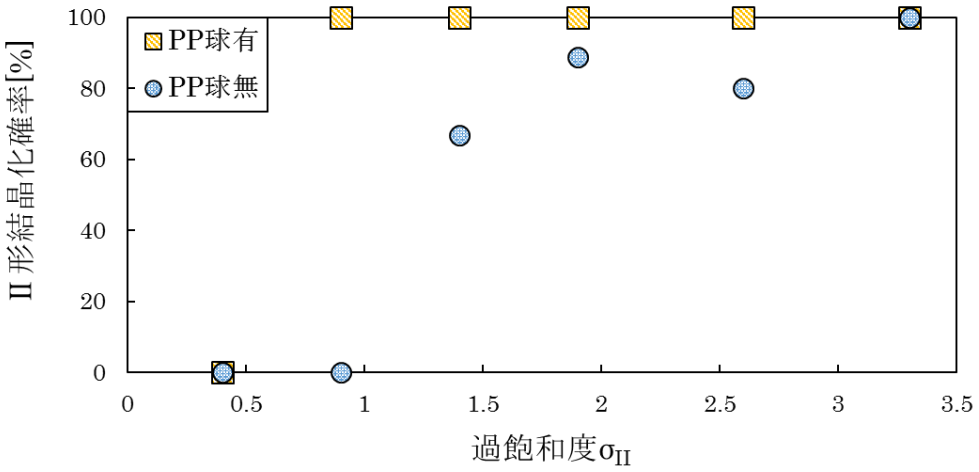


図 3.34　PP 球の有無とⅡ形結晶化確率の関係

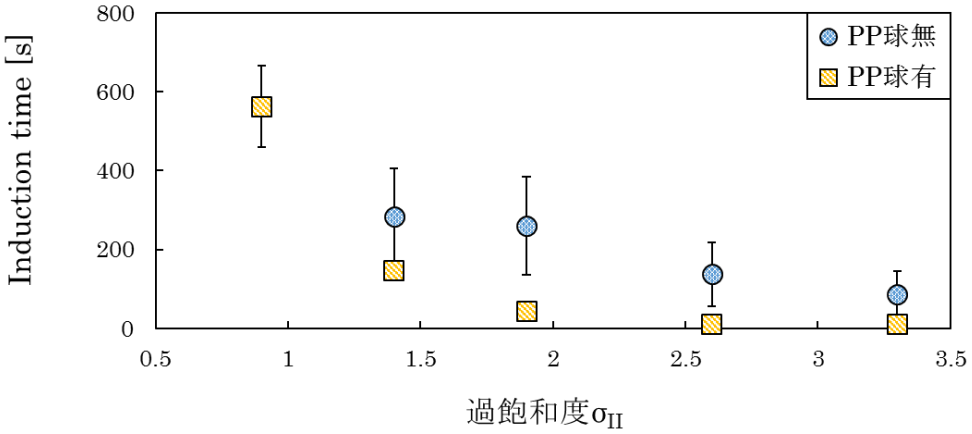


図 3.35　PP 球の有無と induction time の関係
（シンボル：結晶化したサンプルの平均 induction time、エラーバー：90%信頼区間）

3.7.2　種々のプラスチック球の添加効果

3.7.1 ではプラスチック球の材質として PP を選択したが、本実験ではプラスチック球の材質が与える影響を調査した。アセトアミノフェン精製 I 形原料を超純水に加え、濃度 25 mg/ml の溶液を調製した。温度 60°C に加熱し溶解させ、3 時間後に濾過（粒子保持能 0.2 μm）を経て、プラスチック球を入れた 1 ml バイアル瓶に 0.8 ml の溶液を分注した。この時のプラスチック球の材質として、ポリオキシメチレン（POM）、ポリメチルメタクリレート（PMMA）、ポリカーボネイト（PC）を用意した。これを冷却速度 3°C /h で 0°C まで冷却して過飽和状態（$\sigma_{II} = 2.0$）に保った。0°C に到達して約 2 日経過した溶液に対し、10 秒照射-10 秒待機を繰り返す断続条件にて超音波（周波数 45 kHz）を照射した。この断続的な照射は、超音波照射中もしくは 10 秒待機期間中において肉眼で結晶化を確認した場合はすぐに停止し、最長で 800 秒まで続けた。

図 3.36 に各条件における結晶化確率を示す。図 3.36 に示すように、プラスチック球の種類によらず優先的にⅡ形が結晶化する傾向であったが、プラスチック球の種類により結晶化確率及び induction time に大きな違いがあった。POM 球を添加した場合、非常に高い確率（94%）でⅡ形の結晶化が誘起され、かつ induction time も 70 秒付近でまとまっていた。一方、PMMA 球を添加した場合、結晶化が誘起されないサンプルも数多くあり、induction time もサンプルによりバラつきがあり、プラスチック球を入れない場合と似たような傾向であった。PC 球に関しては、POM 球と PMMA 球の中間くらいの効果を有していた。以上の結果より、アセトアミノフェン水溶液内に入れるプラスチック球の種類がⅡ形核発生促進効果に影響を与えることが示唆された。

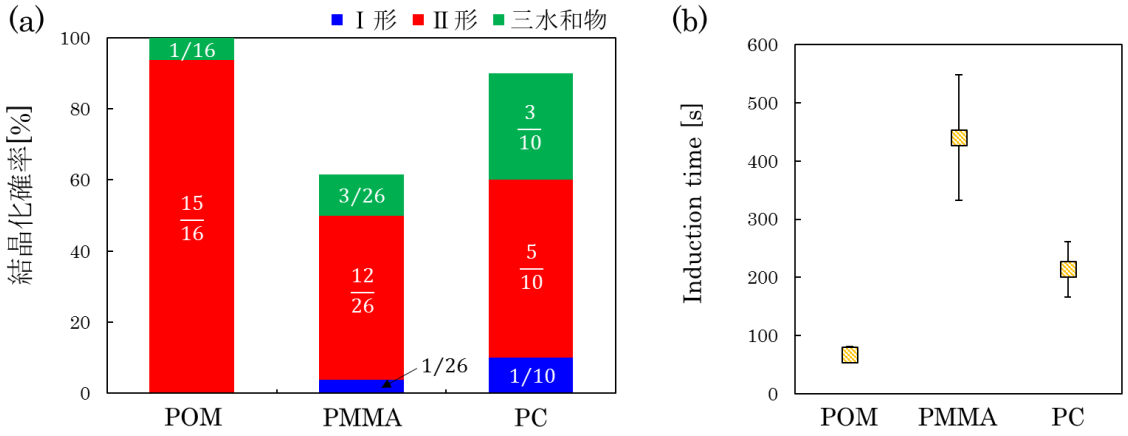
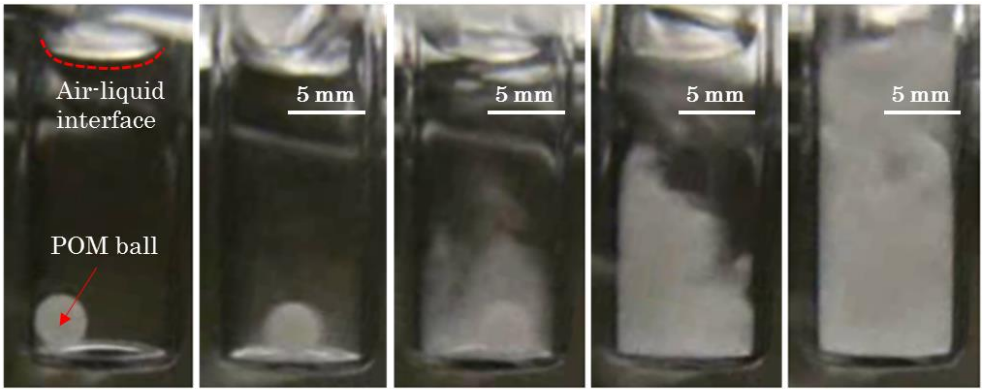


図 3.36　各種プラスチック球の添加効果：(a)結晶化確率、(b)induction time（シンボル：Ⅱ形が結晶化したサンプルの平均 induction time、エラーバー：90%信頼区間）

3.7.3　プラスチック球存在下での超音波照射による結晶化その場観察

超音波照射を用いた結晶化プロセスにおけるプラスチック球の効果を理解する上で、プラスチック球存在下でどのように結晶化が誘起されることを知ることが重要である。そこで結晶化の様子のその場観察を試みた。その場観察の実験では核発生促進効果が顕著に見られた POM 球を用いて行った。これまでの手順と同様にして、POM 球を含むアセトアミノフェン過飽和水溶液（$\sigma_{II} = 3.5$）を準備した。超音波洗浄機内にカメラを入れることで、超音波照射による結晶化のその場観察を試みた。その結果を図 3.37 に示す。3.4.3 で示したように、何も添加されていない場合、基本的には気液界面からⅡ形の結晶化が誘起されるのに対し、POM 球を入れておいた場合は、溶液中に沈んでいる POM 球の表面付近からⅡ形の結晶化が誘起される様子を確認した。この結果より、POM 球の表面がⅡ形結晶化に重要な役割を果たしていることが示唆された。



(a) Before nucleation　(b) 0 s　(c) 0.4 s　(d) 0.8 s　(e) 1.2 s

図 3.37　POM 球存在下において超音波照射による結晶化の様子
（核発生直後を 0s とする）

3.7.4　プラスチック球表面上にトラップされる気体の有無

プラスチック球添加によりⅡ形の結晶化が効率よく誘起される理由の一つとして、キャビテーションの増大が考えられる。これまでに超音波照射条件下で液体中への固体粒子添加はキャビテーションの発生閾値を減少させると報告されている[36]。この現象に対して提唱されている一つのメカニズム[37–39]を説明する。ここで、図 3.38 に示すような液体に浮遊している気泡について考えた時、気泡内部と周囲の液体の圧力の関係は以下の式で表すことができる。

$$P_{in} = P_{out} + \frac{2S}{R} \tag{3.1}$$

P_{in}は気泡内部の圧力、P_{out}は周囲の液体の圧力、Sは表面張力、Rは気泡の半径である。式(3.1)の右辺第 2 項をラプラス圧力といい、気泡内部の圧力は、ラプラス圧力の分だけ周囲の液体の圧力よりも高くなる。ただし、気体の表面が凹面になる場合、Rは負(R<0)と考える。よって、図 3.38 に示すような液体に浮遊している気泡においては、気泡内部の気体は周囲の液体へと溶解していくと考えられる。実際、空気飽和水中において、半径 10 μm の空気気泡は、6.6 秒で完全に溶解し消滅すると報告されている[40]。一方で、図 3.39 に示すように、液体中に固体粒子が存在する場合、もし固体表面上の割れ目があると、割れ目の中では、気体の表面は凹面となるため、気体の圧力よりも周囲の液体の圧力の方が高くなる。従って、気体は液体に溶けにくくなり、固体表面上に気体がトラップされると考えられる。この状態において、超音波照射により、割れ目の上の液体の圧力が減じられると、割れ目内にトラップされた気体部分は膨張し、圧力がさらに低下する。すると、液体に溶解している気体が拡散して割れ目内に流入するため、トラップされた気体部分の体積が徐々に増加し、最終的に割れ目から気泡が次々と飛び出していく[41]。つまり、固体表面上にトラップされた気体がキャビテーションバブルの核となるため、固体粒子添加によりキャビテーションが増大すると考えられる。

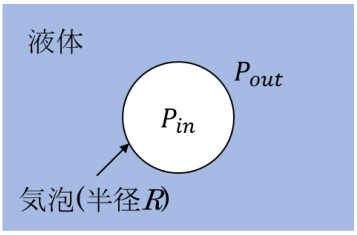


図 3.38　液体中に浮遊する気泡

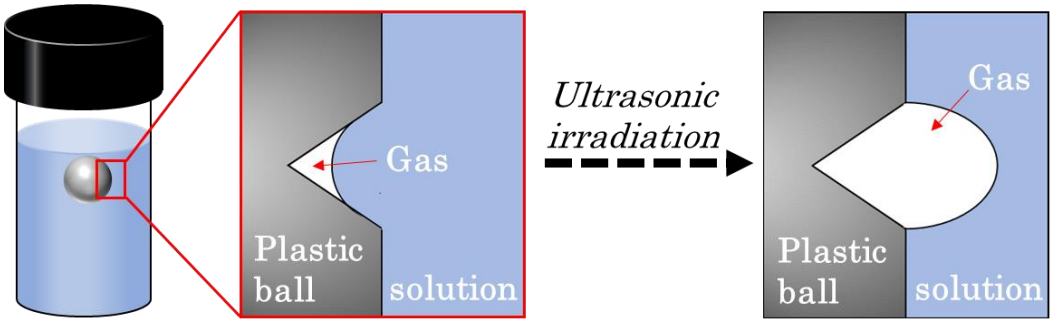


図 3.39　固体粒子添加によりキャビテーションが増大するメカニズム

上記で示したように、固体粒子添加によりキャビテーションが増大するためには、固体表面上にトラップされた気体が重要であることが示唆された。そこで、アセトアミノフェン水溶液にプラスチック球を入れた時に、プラスチック球表面において、気体がトラップされているのかどうか検証した。検証方法は、PP・POM・PMMA・PC 球を含むアセトアミノフェン過飽和水溶液を準備し、それぞれのサンプルを真空デシケータに入れた後、真空ポンプを用いて減圧を行った。

図 3.40 に減圧時における各種プラスチック球の経時変化を示す。図 3.40(a-l)に示すように、PP・POM・PC 球を入れておいた場合、球表面から気体が徐々に膨張してくること確認した。この結果より、アセトアミノフェン水溶液中の PP・POM・PC 球の表面において気体がトラップされていることが示唆された。一方、図 3.40(m-p)に示すように、PMMA 球を入れておいた場合、減圧を行っても球表面から気体が膨張してくる様子は確認できなかった。この結果は、PMMA 球表面において気体がトラップされていないことを示唆している。従って、3.7.1 及び 3.7.2 において PP・POM・PC 球添加によりⅡ形核発生促進効果が得られた理由として、球表面で気体がトラップされており、容器内でキャビテーションバブルが効率よく発生したためであると考えられる。気体のトラップされやすさは、液体の固体表面への濡れ性や固体の表面形状に依存するため、多くの気体を固体表面上に残すためには、親水性の固体表面よりも疎水性の固体表面、また表面形状に関しては、平坦な表面形状よりも起伏のある表面形状の方が適していると考えられる。ここで、POM 球と PC 球の結果を比較すると、球表面にトラップされている気体の量は PC 球の方が多いことが分かった。この結果より、POM 球よりも PC 球の方が核発生促進効果を強く得られると考えられるが、3.7.2 において PC 球よりも POM 球を入れておいた方が明らかに核発生促進効果を有していた。よって、プラスチック球添加が核発生促進効果を持つ理由として、プラスチック球表面で気体がトラップされていることは重要な要素であるが、それ以外の要因も存在することが示唆された。他の要因については 3.7.6 に記載する。

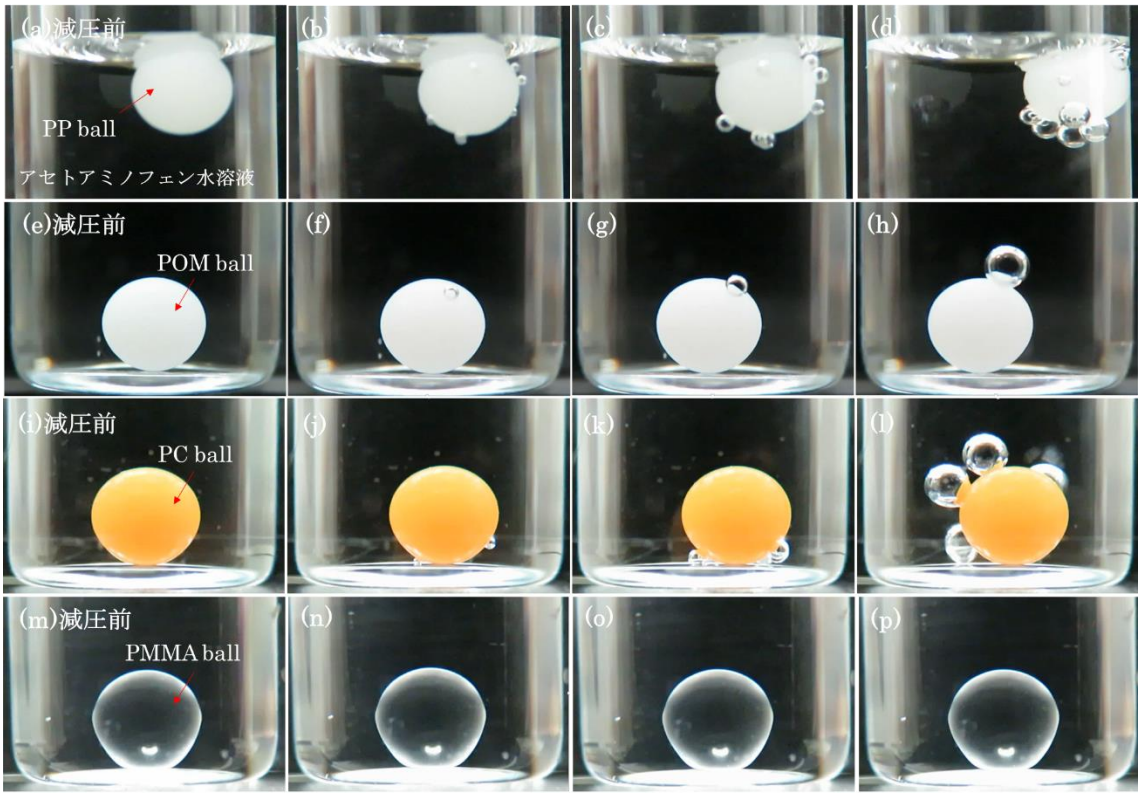


図 3.40　減圧時における各種プラスチック球の経時変化
(a-d)PP 球、(e-h)POM 球、(i-l)PC 球、(m-p)PMMA 球

3.7.5　プラスチック球表面凹凸の影響

3.7.4 よりプラスチック球添加により、効率よく核発生が誘起される理由として、球表面で気体がトラップされていることが重要であることが示唆された。気体のトラップされやすさは、液体の固体表面への濡れ性や固体表面の形状に依存すると考えられる。そこで本実験ではプラスチック球の表面の凹凸の効果を検証した。本実験で使用するプラスチック球の材質として、3.7.2 において核発生促進効果があまり見られなかった PMMA を選択した。次に、のこぎりを用いて PMMA 球の表面形状を粗くし、できるだけ気体が残りやすいような表面形状に加工した。その他の条件は 3.7.2 と同様の条件でアセトアミンフェン過飽和溶液（$\sigma_{II} = 2.0$）を準備し、超音波（45 kHz）を照射した。

図 3.41 に加工した PMMA 球を入れておいた場合の結晶化確率と induction time を示す。参考に 3.7.2 において得られた加工無しの PMMA 球の結果も載せている。図 3.41(a)に示すように、結晶化確率は加工 PMMA 球を入れておくことで 100%まで向上し、Ⅱ形も高確率で結晶化した。また図 3.41(b)に示すように、induction time も 440±108 秒から 150±86 秒まで大幅に低減された。以上の結果より、プラスチック球表面の凹凸は核発生促進効果に大きく影響することが示され、これはプラスチック球表面における気体の残りやすさに起因していると考えられる。

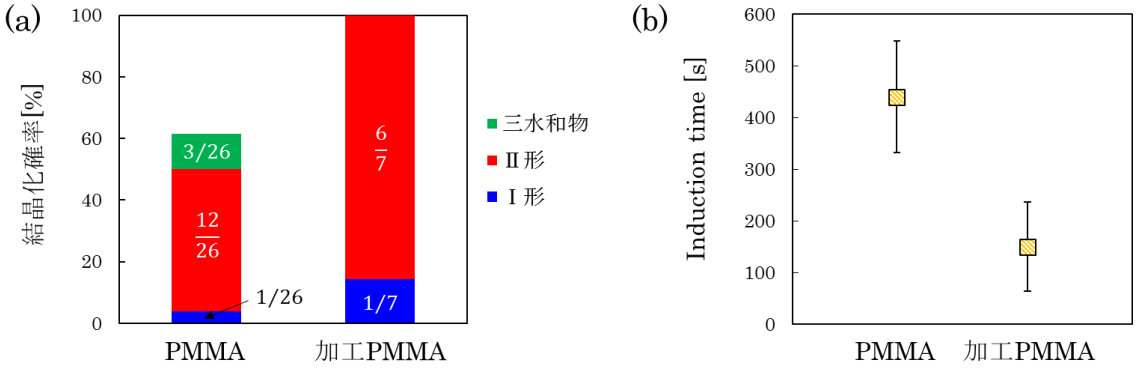


図 3.41　PMMA 球表面凹凸の効果：(a)結晶化確率、(b)induction time（シンボル：Ⅱ形が結晶化したサンプルの平均 induction time、エラーバー：90%信頼区間）

3.7.6　プラスチック球自身が有する核発生促進効果

2.6.4 で述べたように、ポリマーをテンプレートとして結晶化を誘起する技術（Polymer-induced heteronucleation：PIHn）は結晶多形制御において非常に有効な手法であると知られている[42–45]。Lang らは、アセトアミノフェンに PIHn を適用しており、本研究で使用した PP、POM、PMMA はⅡ形の結晶化を、PC はⅠ形の結晶化を誘起すると報告している[46]。本研究においても、3.7.1 で述べたように、アセトアミノフェン過飽和水溶液に PP 球を入れておいた場合、一部サンプルからはⅡ形結晶の自然核発生を確認しおり、これも PIHn の効果であるといえる。よって、アセトアミノフェン過飽和水溶液中にプラスチック球を入れておくことにより、溶液状態（分子の凝集具合や特定の向きに分子が配向する等）が変化すると考えられる。従って、3.7.2 で示したように、プラスチック球の種類により核発生促進効果に違いが見られた一つの要因として、アセトアミノフェン過飽和水溶液中に入れておくプラスチック球の種類により、超音波照射前の溶液状態が異なるためではないかと考えた。そこで本実験では、本研究で使用したプラスチック球自身が有する核発生促進効果の違いを検証した。

アセトアミノフェン精製Ⅰ形原料を超純水に加え、濃度 36 mg/ml の溶液を調製した。温度 60°C に加熱し溶解させ、3 時間後に濾過（粒子保持能：0.2 μm）を経て、PP、POM、PMMA、PC 球を入れた 1 ml バイアル瓶に 0.8 ml の溶液を分注した（各条件 4 サンプル）。これを冷却速度 3°C /h で 0°C まで冷却して過飽和状態（$\sigma_{II} = 3.3$）に保った。0°C に到達して約 4 日経過後、自然核発生が起きていないことを確認した。次にバイアル瓶の蓋をあけて、0°C 環境下で溶媒を蒸発させ結晶化を促し、蒸発開始 45 日後の結晶化確率を求めた。

以下に実験結果についてまとめる。蒸発 45 日後においても溶媒は完全に蒸発しきっておらず残っているのを確認した。図 3.42(a)に蒸発開始 45 日後の結晶化確率を示す。PP、POM 球を入れておいた場合、高確率で結晶化が誘起されるのを確認した。一方、PP、POM 球の場合と同じ程度溶媒が蒸発し過飽和度が上昇しているにも関わらず、PMMA、PC 球を入れておいた場合は蒸発開始 45 日後においても結晶化は全く見られなかった。以上の結果より、

プラスチック球自身が持つ核発生促進効果は、プラスチック球の種類により異なっており、PP、POM 球は強い核発生促進効果を有することが分かった。先行研究では、PP、POM はⅡ形の結晶化を誘起すると報告していた[46]が、本実験ではⅡ形以外に三水和物の結晶化も確認された。よって、PIHn という手法は溶解条件、ポリマー添加条件、結晶化条件などの違いも結晶化する多形に影響を与えることが示唆された。以上の結果より、プラスチック球自身が有する核発生促進効果が異なることが明らかとなったことから、アセトアミノフェン過飽和水溶液中にプラスチック球を入れておいた場合、プラスチック球の種類により溶液状態が異なると考えられる。PP、POM 球は 3.7.4 において球表面に気体をトラップしていることが分かり、かつ 3.7.6 において PP、POM 球自身が有する核発生促進効果も強いことが分かった。以上のことから、プラスチック球存在下でアセトアミノフェン過飽和水溶液に超音波を照射した際、PP、POM 球において強い核発生促進効果が得られた理由として、一つ目に球表面上に気体がトラップされており結果としてキャビテーションが増大したことが挙げられ、二つ目に超音波照射前にプラスチック球添加無や PMMA、PC 球を入れておいた場合と比べて、結晶化しやすい溶液状態になっていたためであると考えられる。

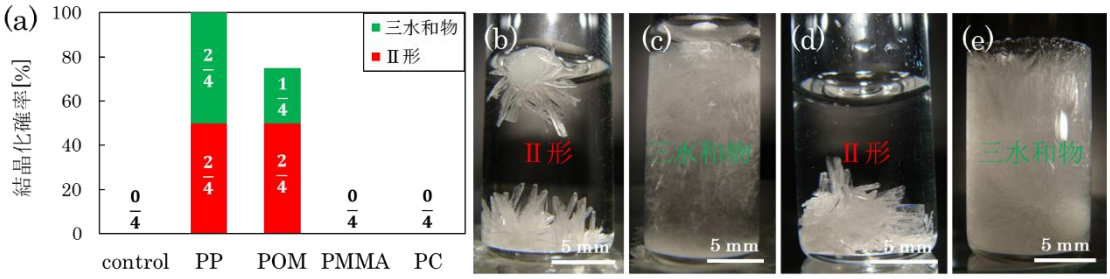


図 3.42　(a)各種プラスチック球存在下における結晶化確率、(b-c)PP 球有において得られた結晶、(d-e)POM 球有において得られた結晶

3.7.7 Ⅱ形結晶サイズ制御

結晶サイズはその後の製造プロセスの操作性等に大きく影響するため、結晶サイズの制御は重要な要素である。本研究では超音波照射による結晶化を肉眼で確認しており、結晶化を確認した時点で超音波照射をストップしている。図 3.43 はアセトアミンフェン水溶液にレーザー光（532 nm、1 mW）を照射しながら超音波照射による結晶化を行った結果である。図 3.43(c)に示すように超音波照射開始 51.6 秒後に初めて輝点状の散乱が確認され、その後の数秒間で輝点状の散乱が急激に増加していく傾向であることが分かった。肉眼では図 3.43(g)程度まで輝点状の散乱が増加して初めて結晶化を確認できるので、一番初めの核発生（図 3.43(c)）から肉眼での結晶化確認（図 3.43(g)）までに、新たな核発生及び超音波照射により発生する衝撃波で核発生した結晶の粉砕が進行していると考えられる。肉眼でⅡ形の結晶化を確認した後に、停止することなく超音波を照射し続けた結果を図 3.44 に示す。このように超音波を停止するタイミングにより、結晶サイズが小さくなっていることが

分かる。これは核発生数の増加及び結晶の粉砕によるものであると考えられる。

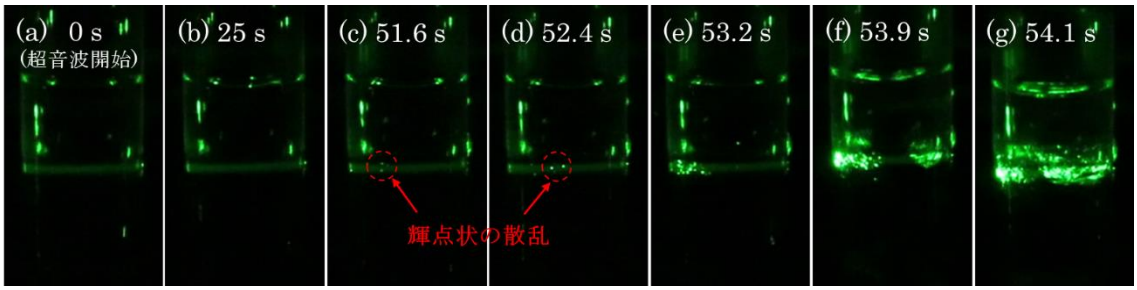


図 3.43　超音波照射による結晶化時の溶液状態変化（$\sigma_{II} = 5.1$）

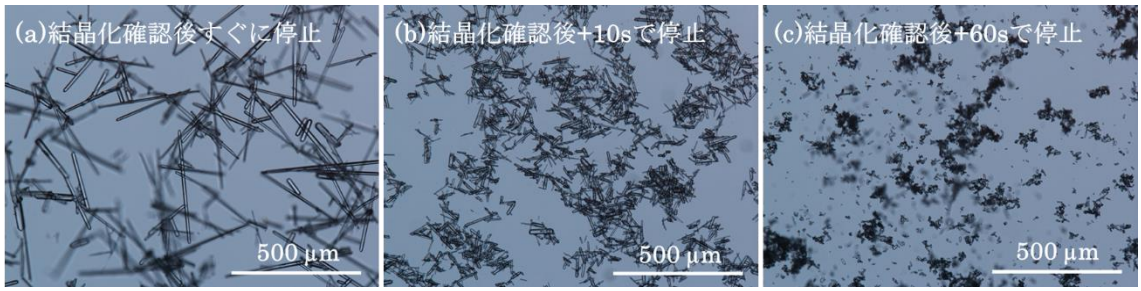


図 3.44　超音波照射停止タイミングとⅡ形結晶サイズ：(a)結晶化確認後すぐに停止、(b)結晶化確認後+10 s で停止、(c)結晶化確認後+60 s で停止

ここで 3.7.1 及び 3.7.2 で述べたように、PP 球や POM 球添加は、induction time のバラつきを低減し、induction time の短縮に有効であることを明らかにした。アセトアミノフェン過飽和水溶液（$\sigma_{II} = 3.3$）に POM 球を入れておいた場合、超音波照射すると induction time がばらつくことなく 5 秒程度で肉眼で結晶化が起きることを確認している。そこで、POM 球を利用することにより、肉眼で結晶化を確認する前に超音波を停止することで、意図的に核発生数を低減（結晶サイズを増大）できるのではないかと考えらえる。本実験では、肉眼でⅡ形結晶化を確認する前における、超音波停止タイミングとⅡ形結晶サイズの関係を調査した。

アセトアミノフェン精製 I 形原料を超純水に加え、濃度 36 mg/ml の溶液を調製した。温度 60°C に加熱し溶解させ、3 時間後に濾過（粒子保持能 0.2 μm）を経て、POM 球を入れた 1 ml バイアル瓶に 0.8 ml の溶液を分注した。これを冷却速度 3°C /h で 0°C まで冷却して過飽和状態($\sigma_{II} = 3.3$)に保った。0°C に到達して約 2 日経過した溶液に対し、超音波（45 kHz）を照射した。照射時間は 4 秒、3 秒、2 秒の 3 条件で行った。超音波照射後、肉眼での結晶化が起きていないのを確認した後に、サンプルを再び 0°C 環境下に戻した。

図 3.45 に超音波照射 1 日後の様子を示す。図 3.45 に示すように、Ⅱ形の結晶化が確認され、超音波照射時間が短くなるにつれて、核発生数が低減し、結晶サイズが増大することが明らかとなった。このように肉眼での結晶化を確認する前に超音波照射を停止したとして

も、Ⅱ形の結晶化を高確率で誘起できることが分かった。3.7.1 で述べたように、プラスチック球を入れない場合は、サンプルにより induction time にバラつきがあるため、本実験のようのような条件を見つけることは非常に難しいと考えられる。以上の結果より、超音波照射により、Ⅱ形結晶サイズを 30 μm～5 mm 程度まで制御できることが明らかとなった。

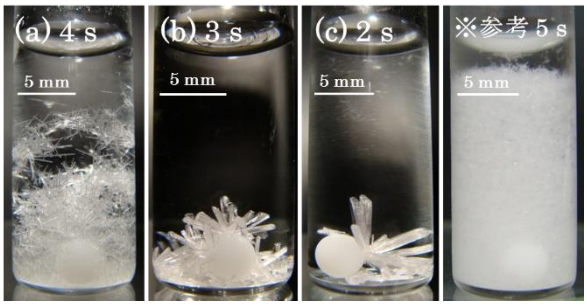


図 3.45　超音波照射時間と得られたⅡ形結晶の関係
(a)4 s、(b)3 s、(c)2 s、参考として肉眼で結晶化を確認した 5 s 照射の結果も載せている

3.7.8　大容量条件におけるプラスチック球添加の効果

従来の超音波結晶化技術の場合、高確率で再現性良くⅡ形が得られるのは小容量条件（0.8 ml）のみであった。これは容器及び溶液量の変更に伴い、容器内に伝わる超音波条件が変化したためであると考えられる。そこで、これまでⅡ形の結晶化が困難であった大容量条件へプラスチック球添加技術を応用することでⅡ形結晶化制御の可能性を検証した。

アセトアミノフェン精製Ⅰ形原料を超純水に加え、濃度 30 mg/ml の溶液を調製した。温度 60°C に加熱し溶解させ、3 時間後に濾過（粒子保持能：0.2 μm）を経て、PP 球を入れた 19 ml バイアル瓶に 15 ml の溶液を分注した（7 サンプル）。比較対象として、PP 球を入れないサンプルも同時に用意した（7 サンプル）。これを冷却速度 3°C /h で 0°C まで冷却して過飽和状態（$\sigma_{II} = 2.6$）に保った。0°C に到達して約 2 日経過した溶液に対し、10 秒照射-10 秒待機を繰り返す断続条件にて超音波（周波数 45 kHz）を照射した。この断続的な照射は、超音波照射中もしくは 10 秒待機期間中において肉眼で結晶化を確認した場合はすぐに停止し、最長で 800 秒まで続けた。

PP 球を入れておいた場合、0°C 到達 2 日経過した時点において 1 サンプルからⅡ形の自然核発生が観察された。それ以外のサンプルは 0°C 到達 2 日経過時点においても結晶化は見られなかった。超音波照射による結晶確率を図 3.46(a)に示す。PP 球がない場合は、結晶化確率が 14%(1/7)と低く、また得られた結晶はⅠ形とⅡ形が混在していた。一方、PP 球を入れておくことで結晶化確率が 100%(6/6)まで向上した。さらに 83%(5/6)という高確率でⅡ形が結晶化した。このことは、プラスチック球を添加することにより容器内で効率よくキャビテーションが発生したためであると考えられる。以上の結果より、プラスチック球添加はⅡ形結晶の大容量化する際に非常に有効な手段になり得るといえる。

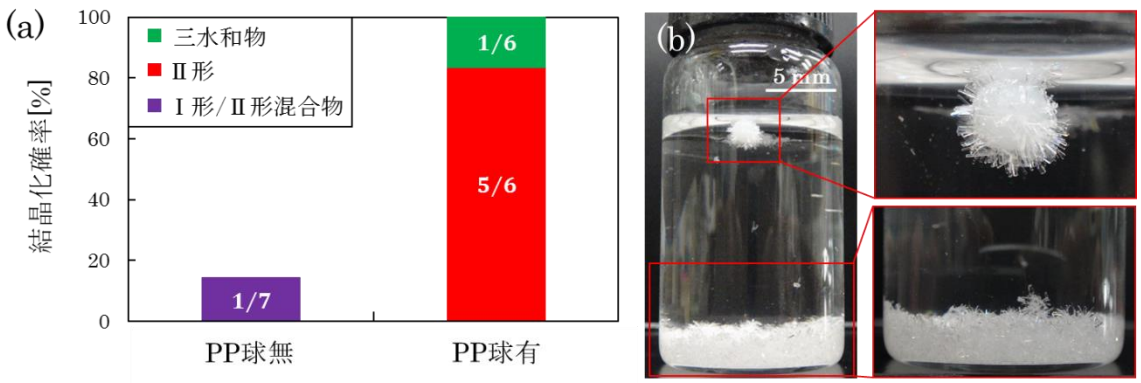


図 3.46　(a)PP 球有無における結晶化確率、(b)PP 球有において得られたⅡ形結晶

3.8　まとめ

本章では超音波照射によるアセトアミノフェンⅡ形結晶化制御法についてまとめた。出発原料中の不純物がⅠ形の結晶化に起因していることを見出した。そこで原料の再結晶化により純度向上を図りかつ濾過を導入することにより、非常に広範囲の過飽和度領域（$\sigma_{II} = 0.4 - 12$）にわたってⅠ形の自然核発生を抑制できることを明らかにした。またこの溶液に対して超音波（45 kHz）照射することで、非常に高確率でⅡ形を結晶化できることが分かった。これは超音波照射によって生じるキャビテーションバブルによってもたらされる効果であり、特にバブルの帯電性等の界面状態がⅡ形の結晶化に作用していると考えられる。超音波照射により得られたⅡ形は、溶液中で長期間安定（室温で少なくとも 5 日間）に存在していた。これは超音波照射によりⅠ形が混じることなく選択的にⅡ形が結晶化していることを示唆している。また、超音波照射により得られたⅡ形結晶を粉末状にして経時安定性を評価したところ、加速試験条件下において 1 週間以内にⅠ形へ転移すること確認した。これはⅡ形結晶内部に含まれる欠陥領域及び粉砕工程が原因であると考えられる。これまでの従来法の超音波照射によるアセトアミノフェンの結晶化にプラスチック球添加を組み合わせた新規Ⅱ形結晶化制御技術の開発に取り組んだ結果、PP、POM 球存在下で超音波を照射した場合、Ⅱ形結晶化確率が向上し、induction time のバラつきの低減及び induction time の短縮にも有効であることが分かった。この理由として、一つ目に球表面上に気体がトラップされており結果としてキャビテーションが増大したことが挙げられ、二つ目に超音波照射前にプラスチック球を入れていない場合と比べて、結晶化しやすい溶液状態になっていたためであると考えられる。

参考文献

[1] N. Amara, B. Ratsimba, A.M. Wilhelm, and H. Delmas, Ultrason. Sonochem. **8** (2001) 265.

[2] N. Lyczko, F. Espitalier, O. Louisnard, and J. Schwartzentruber, Chem. Eng. J. **86** (2002) 233.

[3] G. Ruecroft, D. Hipkiss, T. Ly, N. Maxted, and P.W. Cains, Org. Process Res. Dev. **9** (2005) 923.

[4] E. Miyasaka, Y. Kato, M. Hagisawa, and I. Hirasawa, J. Cryst. Growth **289** (2006) 324.

[5] S. Gracin, M. Uusi-Penttilä, and Å.C. Rasmuson, Cryst. Growth Des. **5** (2005) 1787.

[6] M. Kurotani, and I. Hirasawa, J. Cryst. Growth **310** (2008) 4576.

[7] E. Miyasaka, S. Ebihara, and I. Hirasawa, J. Cryst. Growth **295** (2006) 97.

[8] M. Kurotani, and I. Hirasawa, Chem. Eng. Res. Des. **88** (2010) 1272.

[9] 森陽一朗, 大阪大学大学院工学研究科電気電子情報工学専攻 修士論文, 2014.

[10] P.A. Slavin, D.B. Sheen, E.E.A. Shepherd, J.N. Sherwood, N. Feeder, R. Docherty, and S. Milojevic, J. Cryst. Growth **237–239** (2002) 300.

[11] S. Datta, and D.J.W. Grant, Cryst. Res. Technol. **40** (2005) 233.

[12] S. Liang, X. Duan, X. Zhang, G. Qian, and X. Zhou, RSC Adv. **6** (2016) 74700.

[13] G. Nichols, and C.S. Frampton, J. Pharm. Sci. **87** (1998) 684.

[14] 山中梨紗子, 大阪大学工学部電子情報工学科 卒業論文, 2012.

[15] W. Omar, M. Mohnicke, and J. Ulrich, Cryst. Res. Technol. **41** (2006) 337.

[16] M.L. Peterson, D. McIlroy, P. Shaw, J.P. Mustonen, M. Oliveira, and Ö. Almarsson, Cryst. Growth Des. **3** (2003) 761.

[17] C. Sudha, and K. Srinivasan, J. Cryst. Growth **401** (2014) 248.

[18] G. Dhanaraj, K. Byrappa, V. Prasad, and M. Dudley, Springer Handbook of Crystal Growth, Springer, 2010.

[19] R.I. Ristic, S. Finnie, D.B. Sheen, and J.N. Sherwood, J. Phys. Chem. B **105** (2001) 9057.

[20] 福喜多俊, 大阪大学大学院工学研究科電気電子情報工学専攻 修士論文, 2016.

[21] J. Sponer, Czechoslov. J. Phys. **40** (1990) 1123.

[22] A. Brotchie, F. Grieser, and M. Ashokkumar, Phys. Rev. Lett. **102** (2009) 84302.

[23] M. Ashokkumar, J. Lee, Y. Iida, K. Yasui, T. Kozuka, T. Tuziuti, and A. Towata, Chemphyschem **11** (2010) 1680.

[24] J. Dodds, F. Espitalier, O. Louisnard, R. Grossier, R. David, M. Hassoun, F. Baillon, C. Gatumel, and N. Lyczko, Part. Part. Syst. Charact. **24** (2007) 18.

[25] R.B. Bird, W.E. Stewart, and E.N. Lightfoot, Transport Phenomena, John Wiley and

Sons, 1960.

[26] H. Adachi, K. Takano, Y. Hosokawa, T. Inoue, Y. Mori, H. Matsumura, M. Yoshimura, Y. Tsunaka, M. Morikawa, S. Kanaya, H. Masuhara, Y. Kai, and T. Sasaki, Japanese J. Appl. Physics, Part 2 Lett. **42** (2003) L798.

[27] Y. Hosokawa, H. Adachi, M. Yoshimura, Y. Mori, T. Sasaki, and H. Masuhara, Cryst. Growth Des. **5** (2005) 861.

[28] H.Y. Yoshikawa, Y. Hosokawa, and H. Masuhara, Jpn. J. Appl. Phys. **45** (2006) L23.

[29] H.Y. Yoshikawa, R. Murai, S. Sugiyama, G. Sazaki, T. Kitatani, Y. Takahashi, H. Adachi, H. Matsumura, S. Murakami, T. Inoue, K. Takano, and Y. Mori, J. Cryst. Growth **311** (2009) 956.

[30] 池田憲治, 大阪大学工学部電子情報工学科 卒業論文, 2013.

[31] 池田憲治, 大阪大学大学院工学研究科電気電子情報工学専攻 修士論文, 2015.

[32] D.K. Bučar, J.A. Elliott, M.D. Eddleston, J.K. Cockcroft, and W. Jones, Angew. Chemie Int. Ed. **54** (2015) 249.

[33] Y. 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, Appl. Phys. Express **8** (2015) 65501.

[34] S. Kaur Bhangu, M. Ashokkumar, and J. Lee, Cryst. Growth Des. **16** (2016) 1934.

[35] M.A. Mikhailenko, J. Cryst. Growth **265** (2004) 616.

[36] S.I. Madanshetty, and R.E. Apfel, J. Acoust. Soc. Am. **90** (1991) 1508.

[37] L.A. Crum, Nature **278** (1979) 148.

[38] A.A. Atchley, and A. Prosperetti, J. Acoust. Soc. Am. **86** (1989) 1065.

[39] B.M. Borkent, S. Gekle, A. Prosperetti, and D. Lohse, Phys. Fluids **21** (2009) 102003.

[40] T.G. Leighton, The Acoustic Bubble, Academic Press, 1994.

[41] 崔博坤, 榎本尚也, 原田久志, 興津健二, 音響バブルとソノケミストリー, コロナ社, 2012.

[42] M. Lang, A.L. Grzesiak, and A.J. Matzger, J. Am. Chem. Soc. **124** (2002) 14834.

[43] C.P. Price, A.L. Grzesiak, and A.J. Matzger, J. Am. Chem. Soc. **127** (2005) 5512.

[44] A.L. Grzesiak, F.J. Uribe, N.W. Ockwig, O.M. Yaghi, and A.J. Matzger, Angew. Chem. Int. Ed. **45** (2006) 2553.

[45] A.L. Grzesiak, and A.J. Matzger, Inorg. Chem. **46** (2007) 453.

[46] M. Lang, A.L. Grzesiak, and A.J. Matzger, J. Am. Chem. Soc. **124** (2002) 14834.

第 4 章 バルク状ポリマー界面を用いたアセトアミノフェン三水和物の結晶化制御

4.1 はじめに

本章では、バルク状ポリマー界面を用いた結晶化技術により、アセトアミノフェン三水和物の結晶化に成功したので報告する。近年、Lang らによって、ポリマーを用いた結晶化技術（Polymer-induced heteronucleation(PIHn)）が開発され、新しい多形の発見や選択的な多形結晶化に用いられている[1–4]。詳細なメカニズムに関してはまだ明らかになっていないが、過去に報告されているようにポリマー界面で有機分子が特異的な配向をするためであると考えられている[5–7]。すでに様々な化合物に適用されており、アセトアミノフェンにおいては、84 種類のポリマーが試された結果、① I 形が結晶化する、② II 形が結晶化する、③ I 形と II 形が混在して結晶化する、というように 3 種類に大別できると報告されている[1]。一方で、我々は II 形の大量生産化技術や安定性向上技術を開発する過程で、あるポリマーを使うことにより I 形、II 形のいずれでもない結晶相の三水和物が析出することを発見した。

4.2 バルク状ポリマー界面を用いた三水和物の結晶化

4.2.1 バルク状ポリマーの作製方法

本研究では、主成分がアクリル変成シリコーンポリマーである接着剤（スーパーX ゴールド No.777、セメダイン社製）を、図 4.1 に示すように、室温大気中で乾燥固化させた後、円盤状（直径：8 mm、厚さ：1.5 mm）に切り出したものをバルク状ポリマーとして使用した。

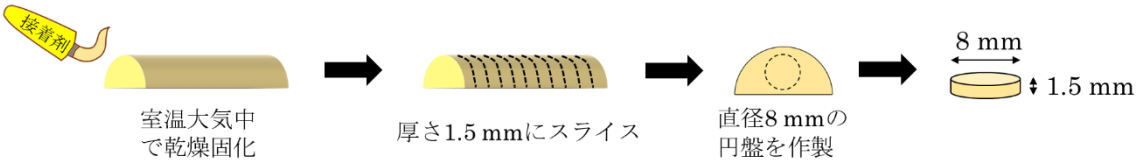


図 4.1 バルク状ポリマー作製手順

4.2.2 バルク状ポリマー界面を用いたアセトアミノフェンの結晶化実験

3.3.4 で述べた手順と同じように、Acros 社製のアセトアミノフェン I 形粉末（純度：98%）を超純水に加え、溶解及び濾過を行った後、冷却することでアセトアミノフェンを再結晶化させた。この再結晶化した結晶は粉末 X 線回折測定により、I 形であることを確認しており、本実験ではこの精製 I 形結晶を原料として使用した。また、溶媒として超純水

（18.2 MΩ cm）を使用した。アセトアミノフェン精製 I 形原料を超純水に加え、濃度 24, 32, 40 mg/ml の溶液を調製した。温度 70°C に加熱し溶解させ、3 時間後に濾過（粒子保持能：0.2 μm）を経て、上述のポリマーを入れた 1 ml バイアル瓶に 0.8 ml の溶液を分注した（8 サンプル）。比較対象として、ポリマーを入れないサンプルも同時に用意した（4 サンプル）。これを冷却速度 3°C /h で 0°C まで冷却して、過飽和状態（$\sigma_I = 2.5, 3.7, 4.8$）に保った。

図 4.2 はその後、25 日経過後の結晶化確率をまとめた結果である。ポリマーを入れない場合、いずれの過飽和条件においても、結晶化は全く見られなかった。すなわち、過飽和度 $\sigma_I = 2.5 - 4.8$の溶液は自然核発生の生じない準安定領域内にあるといえる。一方、ポリマーを入れた場合、いずれの条件でも高確率で結晶が析出し、低過飽和度（$\sigma_I = 2.5$）の条件で大型単結晶（図 4.3(a)）が、高過飽和度（$\sigma_I = 4.8$）の条件で多数の薄板状結晶（図 4.3(b)）が結晶化する傾向であることが明らかとなった。ポリマー添加により得られた結晶の形状に着目すると、大型単結晶は平板状の形状を有していることから針状の形状が特徴である II 形ではないと推察できる。また大型単結晶は、3.2.2 で示した比較的大きな I 形結晶と比較すると、I 形には見られるファセットを有していないように見受けられる。薄板状結晶については、3.2.3 で示した平板状の I 形と及び針状の II 形とは明らかに結晶形状が異なっている。よって、ポリマー添加により得られた大型単結晶と薄板状結晶は、I 形及び II 形のいずれでもないと考えられる。しかしながら、結晶形状だけでは、I 形及び II 形のいずれでもないとは言い切れないため、ポリマー添加により得られた結晶の構造解析を試みた。

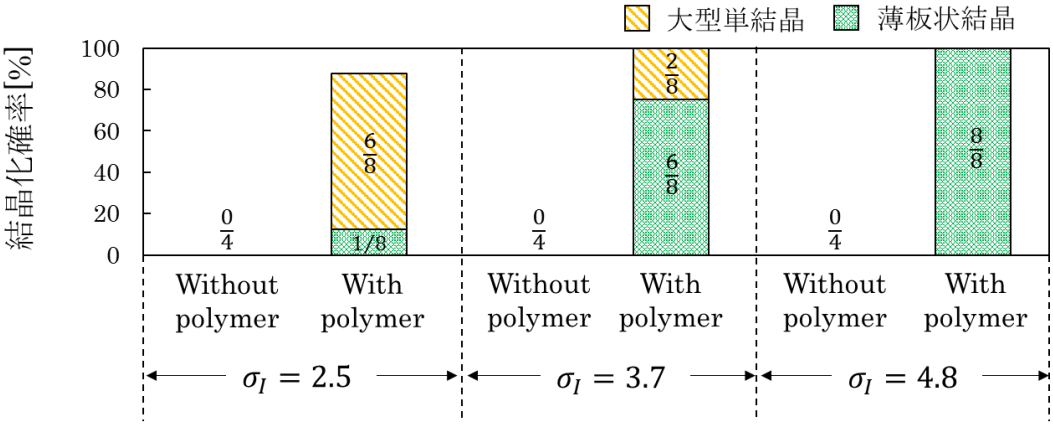


図 4.2　ポリマーの有無における 0°C 到達 25 日後の結晶化確率

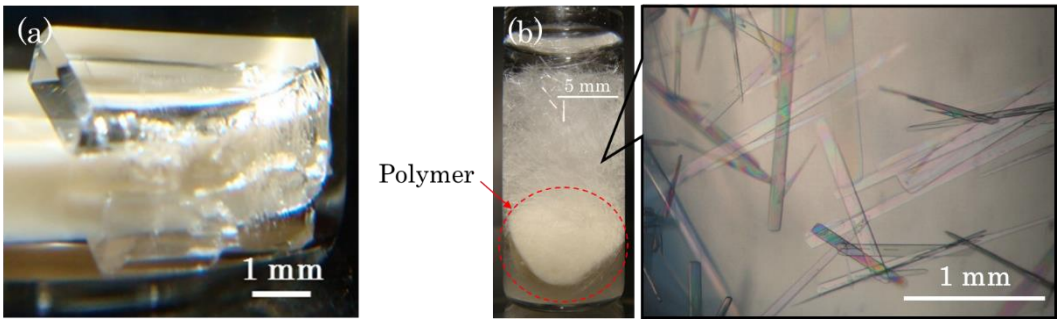


図 4.3　ポリマー添加により得られた結晶：(a)大型単結晶（$\sigma_I = 2.5$）、(b)薄板状結晶（$\sigma_I = 4.8$）

4.2.3　大型単結晶の構造解析

ポリマー添加により得られた結晶のうち、扱いやすさから大型単結晶の構造解析に取り組んだ。まず、大型単結晶を溶液中から大気中に取り出して乾燥させた結晶を用いて構造解析を試みた。しかしながら、溶液中においては透明であった大型単結晶は、大気中に取り出すと時間の経過とともに不透明化することを確認した（詳細は4.3節に記載）。よって、大型単結晶は大気中では非常に不安定であり、大気中へ取り出すことにより別の結晶相に転移する可能性も考えられる。そこで、大型単結晶（2.8×2.5×0.数 mm^3程度）を大気中に取り出した後、すぐに結晶を大気に暴露させないようにパラトンを用いてコーティングした。その後、リガク社製の単結晶自動X線構造解析装置（R-AXIS RAPID）を用いて構造解析を行った。表4.1に詳細な単結晶X線構造解析の条件を示す。表4.2は詳細な構造解析結果を示しており、ポリマー添加により得られた結晶は過去に報告されているアセトアミノフェン三水和物[8]であることが分かった。図4.4にアセトアミノフェン三水和物の結晶構造を示す[9]。これまで報告されている三水和物結晶サイズは最大で0.74×0.47×0.31 mm^3程度であった[8]のに対し、本研究のようにアセトアミノフェン過飽和水溶液中（$\sigma_I = 2.5 - 3.7$）にポリマーを添加しておくことにより、最大で4.5×3.9×0.68 mm^3というこれまでに比べて非常に大きな三水和物単結晶の育成が可能となった。

表 4.1　単結晶 X 線構造解析条件

X-ray source	Accelerate voltage [kV]	Accelerate current [mA]	Temperature [℃]
CuKα	50	100	-150

表 4.2　ポリマー添加により得られた大型単結晶の構造解析結果

Chemical formula	$C_8H_9NO_2 \cdot 3H_2O$
Formula weight	205.21
Crystal system	直方晶
Space group	*Pbca*
Lattice parameters	a = 7.3215(2) Å b = 12.6028(3) Å c = 22.6396(5) Å V = 2088.98(8) Å3

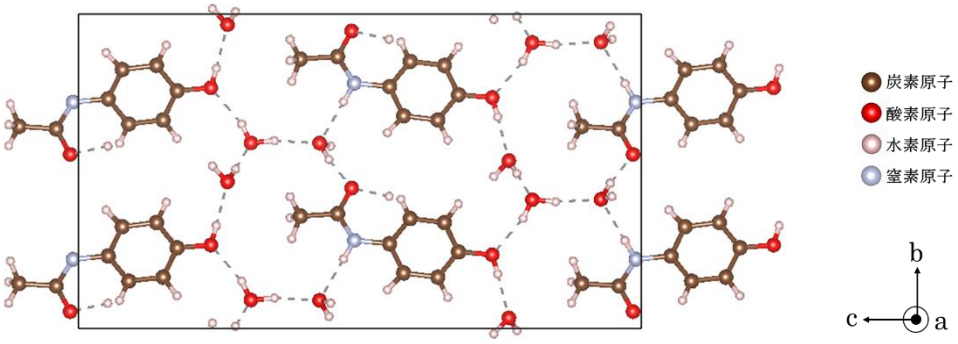


図 4.4　アセトアミノフェン三水和物の結晶構造（a 軸方向から見た図）

4.2.4　三水和物結晶の核発生及び成長のその場観察

ポリマーの効果を明らかにするために、三水和物の核発生がどこで生じ、そして成長するかを調査した。アセトアミノフェン精製 I 形原料を超純水に加え、濃度 32 mg/ml の溶液を調製した。温度 60°C で加熱し溶解させ、1 時間後に濾過（粒子保持能：0.2 μm）を経て、19 ml バイアル瓶に 15 ml の溶液を分注した。その直後に、溶液のどこから結晶化したか判断しやすくするため、棒状に加工したポリマー（図 4.5(a)の白い物体）をバイアル瓶の蓋部分から吊るし、溶液内に浸漬させた。これを 3°C /h の冷却速度で 0°C まで冷却して、過飽和状態（$\sigma_I = 3.7$）に保った。本実験では、3°C /h の冷却過程及び 0°C 到達後の経時変化をビデオカメラにて撮影を行った。その結果を図 4.5 に示す。0°C に到達してから 2.5 時間後に、ポリマー表面付近から三水和物の結晶化が誘起されるのを確認した（図 4.5(b)）。結晶化が誘起された後、結晶は急速に成長し、5 分程度で溶液全体が結晶で埋めつくされた。すなわち、ポリマー界面からの不均一核発生によって結晶化していることが確認できた。

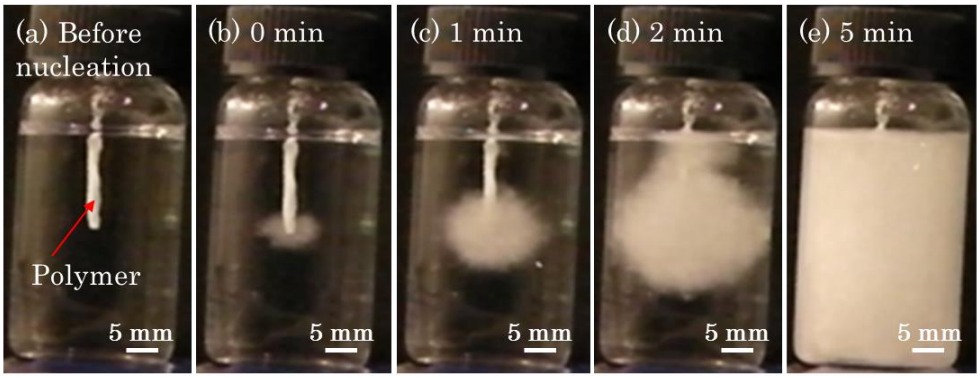


図 4.5　三水和物結晶の核発生及び成長のその場観察（核発生直後を 0 min とする）

三水和物が結晶化した要因について考察する。これまで報告されているように、ポリマーによって多形が選択される理由は、ポリマー表面の官能基が重要な役割を果たしていると考えられている[5–7]。アセトアミノフェンの場合、アセトアミノフェンの疎水基とポリマー表面の疎水基の間に生じる疎水性相互作用や、ポリマー表面とアセトアミノフェン間に生じる水素結合などの影響により、Ⅰ形及びⅡ形のどちらかが選択されるのではないかと報告されている[6]。その場観察（図 4.5）の結果、ポリマー表面付近から三水和物の結晶化が誘起されていることから、本研究で使用したポリマー表面が三水和物の配向に有利に働いたと考えられる。図 4.6 に接着剤の主成分であるアクリル変成シリコーンポリマーの化学構造を示す。官能基として多官能アルコキシシリル基を有し、主にはオキシプロピレンと（メタ）アクリル酸エステルの 2 つの骨格からなる。オキシプロピレンと（メタ）アクリル酸エステルの比率はおおよそ近い割合である[10]。図 4.7 に接着剤の硬化機構を示す。硬化触媒と湿気の存在で、アルコールや水を副生する縮合反応で 3 次元網状構造となる。硬化した後のポリマーの最表面は、疎水性のアルキル基（図 4.6 中の R、R’で示される炭化水素基）及び水素結合アクセプターとして作用するカルボニル基（−C(=O)−）等で覆われていると考えられる。よって本研究で使用したポリマーの有する疎水基とアセトアミノフェンの疎水基との間に生じる疎水性相互作用や、ポリマーの有するカルボニル基とアセトアミノフェンとの間に生じる水素結合がアセトアミノフェン三水和物の結晶化に有利に働いたと考えられる。また、今回使用したバルク状ポリマーは接着剤を元に作製しており、溶媒である水への成分の溶け出しが核形成に影響したとも考えられる。そこで、超純水にバルク状ポリマーを 30 日間浸漬させた液体を使用して、アセトアミノフェンの結晶化実験を行った。以下に具体的な実験方法を記載する。アセトアミノフェン精製Ⅰ形原料を超純水に加え、濃度 32 mg/ml の溶液を調製した。温度 60°C に加熱し溶解させ、3 時間後に濾過（粒子保持能：0.2 μm）を経て、バルク状ポリマーを 30 日間浸漬させた液体（20, 100 μl）をあらかじめ入れておいた 1 ml バイアル瓶に 0.8 ml の溶液を分注した（各条件 5 サンプルずつ用意）。これを冷却速度 3°C /h で 0°C まで冷却して、過飽和状態（$\sigma_I = 3.7$）に保った。その結果、0°C 到達後 3 か月経過しても結晶化は確認されなかった。以上の結果は、超純水中

に溶け出した成分は三水和物の結晶化に起因しておらず、ポリマー表面が三水和物の結晶化に有効であることを示唆している。また、ポリマー界面において、三水和物が核発生した後、次々と二次核発生（溶液中に存在する結晶が原因で起こる核発生）[11]が生じ、溶液全体が急速に三水和物で埋めつくされたと考えられる。

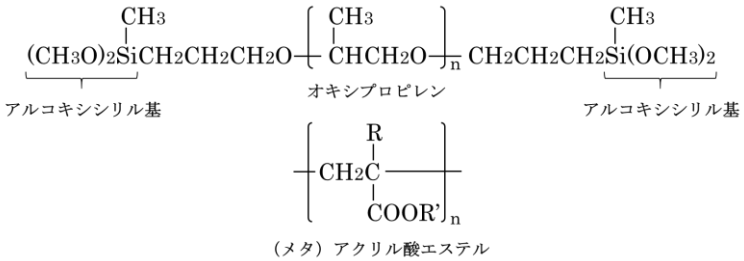


図 4.6　接着剤の主成分であるアクリル変成シリコーンポリマーの化学構造
（R,R’：アルキル基）

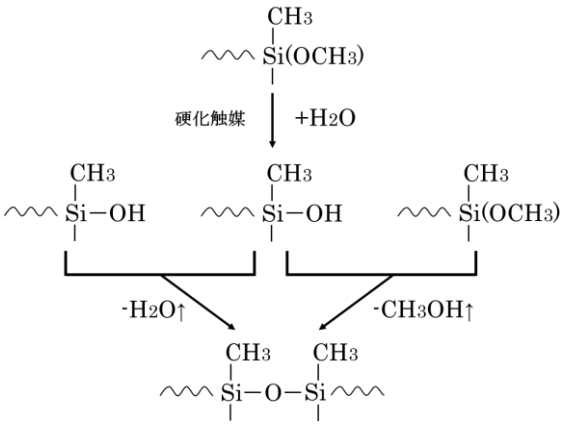


図 4.7　接着剤の硬化機構

4.3　大気中における三水和物結晶の経時安定性

先行研究では、溶液中にある三水和物結晶を濾紙上で乾燥させたとき、1 分程度で透明な結晶が不透明に変化する現象が観察され、その不透明な結晶は粉末 X 線回折測定やラマン分光法により I 形であることが確認されている[12]。よって、三水和物結晶は大気中において非常に不安定であると知られている。そこで本研究においても、バルク状ポリマー界面を用いた結晶化技術により得られた三水和物結晶の大気中における経時安定性をラマン分光法により調査した。ラマンスペクトルの測定には Nanophoton 社製の RAMAN-11 を用いた。

4.3.1　大型三水和物単結晶の経時安定性評価

4.2.2 において作製した大型三水和物単結晶を、溶液から大気中に取り出し、取り出し直

後から一定期間ごとに結晶の一点にレーザーを照射し、ラマンスペクトルを測定した。詳細な測定条件は、表 4.3 に示す。

表 4.3　ラマン分光法の測定条件

Laser wavelength [nm]	Laser power [mW]	Spectral range [cm^{-1}]	Temperature [℃]
532	500	25-2600	Room temperature

図 4.8 に三水和物結晶を大気中に取り出してからの結晶の経時変化、図 4.9 に三水和物結晶を大気中に取り出してからのラマンスペクトルの経時変化を示す。Ⅰ形、Ⅱ形、Ⅲ形、三水和物のラマンスペクトルが記載されている文献[13–16]と比較した結果、大気中へ取り出した直後の透明な結晶は 1270 cm^{-1} 及び C=O 伸縮振動に由来する 1634 cm^{-1} 付近の三水和物特有のピークを有していた。しかし、時間の経過とともに透明な結晶の不透明化が進行し、同時に三水和物特有のピークは消滅していき、反対にフェニル環の C-C 伸縮振動に由来する 1221 cm^{-1} 及び N-H 変角振動に由来する 1574cm^{-1} 付近のⅡ形特有のピークが出現し始めた。三水和物を室温大気中に取り出してから 13 分程度でⅡ形への転移が完了した。以上の結果より、三水和物は大気中では非常に安定性が低く、三水和物からすぐに脱水しⅡ形へ転移することが明らかとなった。この結晶を室温大気中でさらに 1 か月間保持した後の結晶のラマンスペクトル測定を行った結果、引き続きⅡ形を維持しており、Ⅰ形特有のピークも確認されなかった。

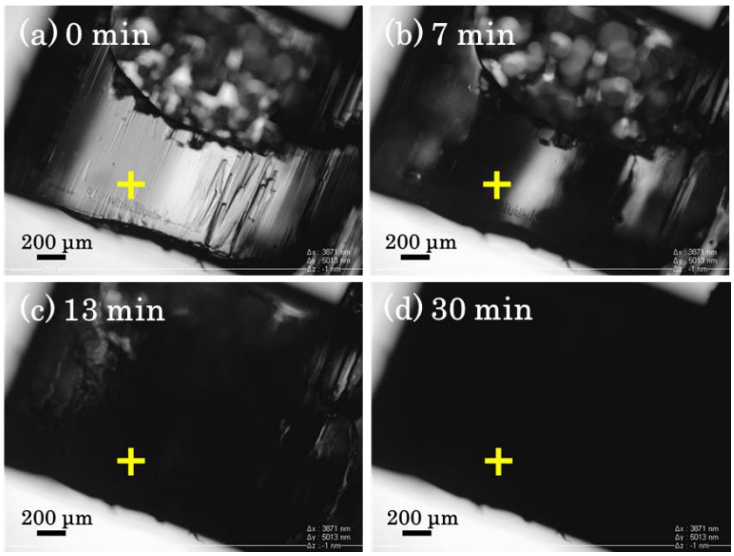


図 4.8　大型三水和物単結晶を室温大気中に取り出し後の結晶の経時変化：(a)0 min 後、(b)7 min 後、(c)13 min 後、(d)30 min 後　（黄色十字印：ラマンスペクトル測定点）

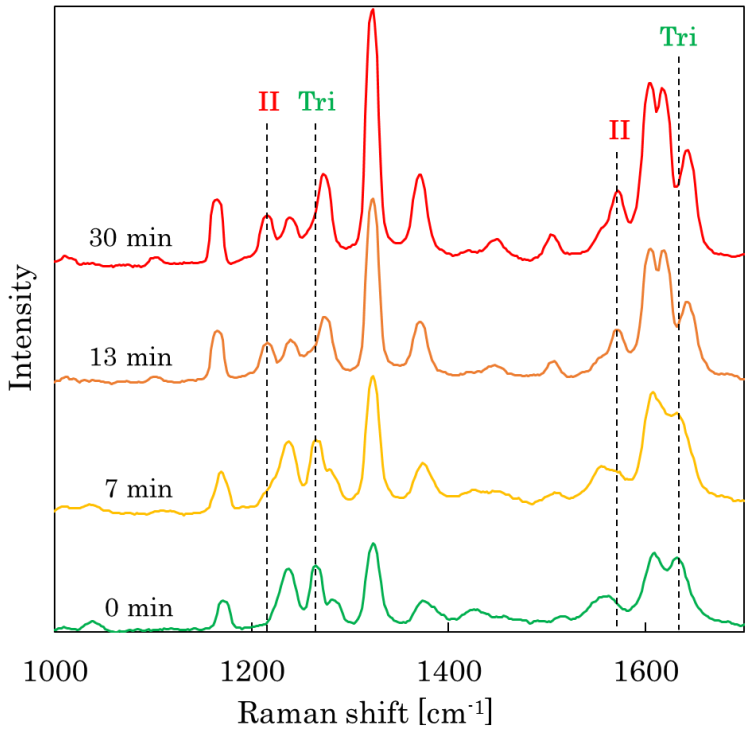


図 4.9　大型三水和物単結晶を室温大気中に取り出し後のラマンスペクトルの経時変化
Ⅱ：Ⅱ形特有のピーク、Tri：三水和物特有のピーク

4.3.2　薄板状三水和物結晶の経時安定性評価

4.2.2 に記載した手順で作製した薄板状の三水和物結晶を、濾紙上に取り出し、室温大気中で乾燥させた。図 4.10(a)は大気中に取り出す前の溶液中における三水和物結晶の様子で、図 4.10(b)は大気中に取り出してから 13 時間経過した結晶の様子を示している。図 4.10 に示すように、大型三水和物結晶と同様に、溶液中において透明であった結晶が、時間の経過とともに不透明化していく様子を確認した。また、不透明化した結晶のラマンスペクトルを図 4.11 に示す。Ⅰ形、Ⅱ形、Ⅲ形、三水和物のラマンスペクトルが記載されている文献[13–16]と比較した結果、不透明な結晶のうち、Ⅰ形に転移している部分（図 4.11(a-b)）と、Ⅱ形に転移している部分（図 4.11(b-c)）が存在することが分かった。以上の結果より、本研究で得られた三水和物は一度Ⅱ形へ転移する場合も確認できた。先行研究では、液体窒素、氷添加などといった急冷により結晶化させた三水和物は大気中において直接Ⅰ形へ転移すると報告しているが、オストワルドの段階則に従いⅡ形を介することも完全には否定できないと述べられていた[12]。よって、大気中において三水和物からⅠ形へ転移する場合、実際にはⅡ形を介しており、結晶化方法により転移速度が異なる可能性が示唆された。

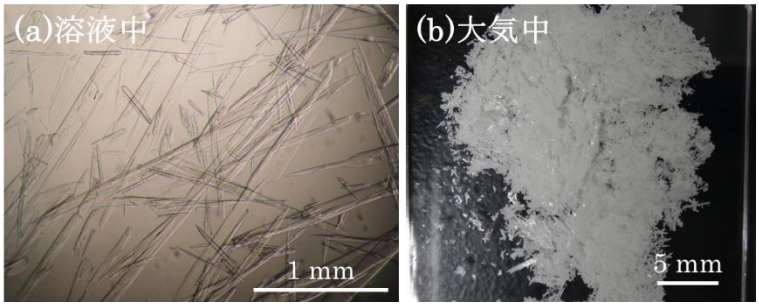


図 4.10　(a)溶液中における薄板状三水和物結晶、(b)大気中に取り出してから 13 時間後の薄板状三水和物結晶

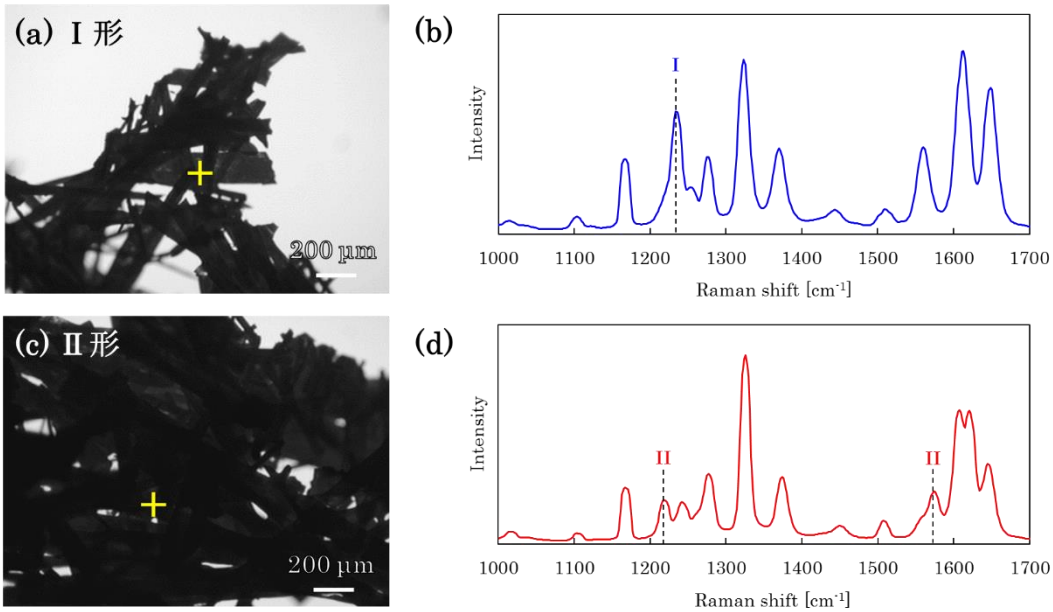


図 4.11 薄板状三水和物結晶を大気中に取り出してから 13 時間後のラマンスペクトル：(a-b) I 形へ転移していた箇所、(c-d) II 形へ転移していた箇所（黄色十字印：ラマンスペクトル測定点、I：I 形特有（C-N 伸縮振動に由来する 1237cm $^{-1}$ 付近）のピーク、II：II 形特有（フェニル環の C-C 伸縮振動に由来する 1221 cm^{-1} 及び N-H 変角振動に由来する 1574cm $^{-1}$ 付近）のピーク）

4.4　溶液中における三水和物結晶の安定性と溶解度測定

4.4.1　溶液中における三水和物結晶の安定性

先行研究では、液体窒素、氷添加などといった急冷による結晶化方法により、0°C で三水和物を結晶化させている[12]。また、三水和物結晶は 0°C 溶液中において安定に存在できるが、その三水和物結晶を含む溶液を 5°C より高温に昇温させたとき、溶液媒介相転移により I 形へ転移することが確認されている[12]。以上のことから三水和物は 5°C より高温領域では非常に不安定であると考えられてきた。そこで本研究で得られた三水和物結晶に関

しても、溶液中における安定性を調査した。

まず、4.2.2 に示したような手順により、0°C で三水和物を結晶化させた。次に、このサンプルを、10、20°C 環境下に移して 4 日間静置し経時変化を観察した。図 4.12 に各温度環境下に移した直後のサンプルの様子及び 4 日後のサンプルの様子を示す。温度上昇に伴い一部の結晶が溶解しているが、4 日静置後においても薄板状三水和物結晶が残っていたことから、他の多形へ転移していないと考えられる。以上の結果より、本研究で得られた三水和物は 10、20°C に昇温したとしても、Ⅰ形への溶液媒介相転移が生じなかったことから、先行研究と比べて、溶液中でより安定性の高い三水和物を育成することができたと考えられる。

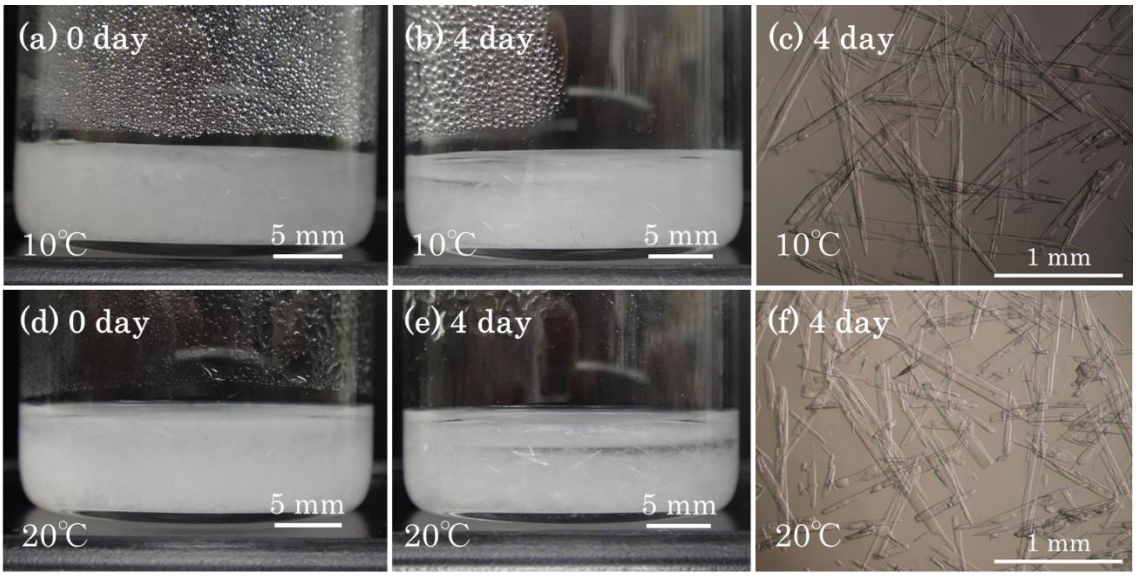


図 4.12　10、20°C に昇温後の経時変化 : (a),(d)昇温直後の様子、(b),(d)昇温 4 日後の様子、(c),(f)昇温 4 日後に溶け残っていた結晶の顕微鏡写真

4.4.2　三水和物結晶の溶解度測定

4.2 節及び 4.4.1 で示したように、バルク状ポリマー界面を用いた結晶化技術により、三水和物の結晶化に成功し、さらに温度に関わらず溶液中で結晶が安定に存在できることを明らかにした。三水和物結晶の溶解度は、これまで安定性の低さ故に 0°C のみでしか測定されていなかった。本研究ではより高温領域でも溶液中で三水和物を転移させることなく長期間安定に維持することができたため、溶解度の測定が可能であると考えられる。そこで 10、20、30°C における三水和物の溶解度測定を初めて試みた。

以下に詳細な溶解度測定方法を示す。まず 4.2 節に示したような手順により、0°C で三水和物を結晶化させた。このサンプルを溶解度測定温度（10、20、30°C）に設定した恒温槽に移し、各温度における三水和物結晶の飽和溶液の作製を試みた。溶液を均一化するため、一定期間ごとにサンプルを測定温度に設定したインキュベータ内のロータリーシェーカー

上にのせて、回転速度 150 rpm（回転半径：約 20 mm）で 5 分間（30 秒攪拌 30 秒停止）攪拌した。サンプルを少なくとも 3 日間恒温槽内で静置させた後、溶液中において他の多形に転移することなく三水和物結晶のみが溶け残っていることを確認した。次に、この溶液の上澄みをピペットで採取しフィルター（粒子保持能：0.2 μm）を用いて濾過することで、各温度における三水和物結晶の飽和溶液を準備した。飽和溶液 2 ml を別の容器に移し、溶媒を室温で蒸発させた。溶解度は(mr-mv)/vs を計算することで求めた。mr は蒸発後の容器と結晶化したアセトアミノフェンを含めた質量、mv は容器の質量、vs は取り出した飽和溶液の体積である。

溶解度測定結果を図 4.13 に示す。比較対象として、本研究で得られたⅠ形及びⅡ形結晶を用いて測定したⅠ形及びⅡ形の溶解度も載せている[17]。図 4.13 より今回測定した温度範囲（10-30°C）では、Ⅰ形＜Ⅱ形＜三水和物の順で溶解度が高くなることが分かった。また三水和物とⅠ形及びⅡ形との溶解度差は温度が増加するにつれて大きくなることが明らかとなった。また、先行研究や本研究においても三水和物が 0°C で結晶化しやすい理由は、高温領域では三水和物の溶解度が高く、結晶化に必要な過飽和度が不足するためであると考えられる。以上の結果より、三水和物の溶解度は非常に高いため、薬剤として三水和物の使用が期待されたが、4.3 節で示したように三水和物は大気中で非常に不安定であり、すぐにⅠ形もしくはⅡ形へ転移してしまうので、安定性を大幅に向上させない限り、三水和物の製剤化は難しいと考えられる。ちなみに、三水和物は温度により溶解度が急激に変化することや、0°C 環境を維持しながら作業をする難しさから、本研究では 0°C における溶解度測定を行っていない。ただし、溶液中において複数の多形を意図的に共存させ、その後の結晶の溶解及び成長の挙動を観察することで、どちらの多形がより溶解度が低いかを推察することができる（詳細は 4.4.3 に記載）。

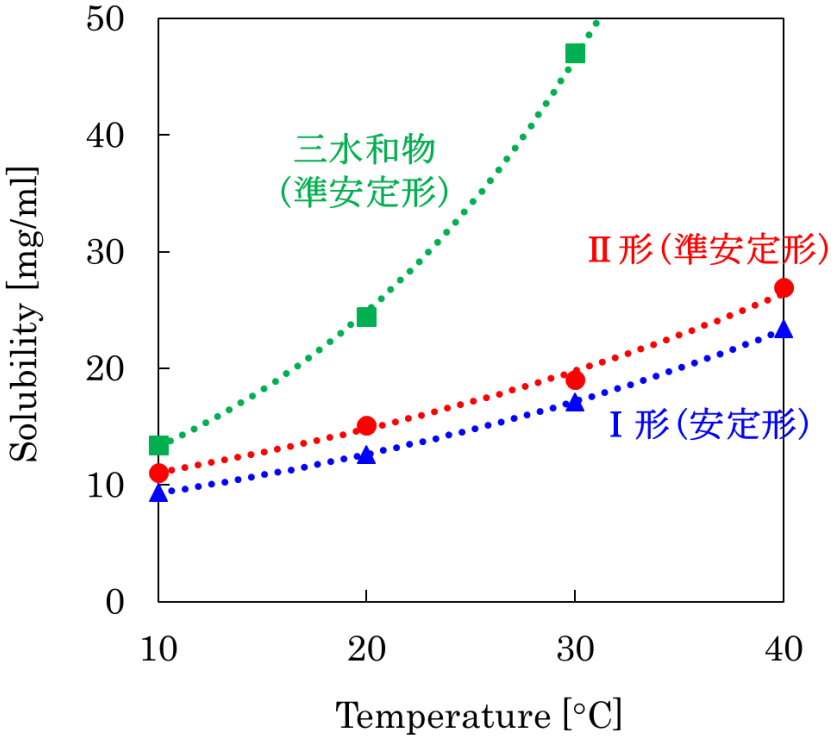


図 4.13　アセトアミノフェン三水和物の水に対する溶解度

4.4.3　溶液中で安定に存在できる要因の考察

本研究で得られた三水和物結晶が温度に関わらず溶液中において安定に存在できる理由は、他の多形が混じることなく三水和物を選択的に結晶化できていたためであると考えられる。このことは、以下に示す I 形と三水和物間の溶液媒介相転移の温度依存性を調査した結果から推察できる。2.5.2 で述べたように、溶液中で複数の多形が共存した場合、多形間の溶解度差が原因により、準安定形（溶解度の高い多形）の溶解と安定形（溶解度の低い多形）の成長が進行する結果、溶液中の結晶は全て安定形に転移する（溶液媒介相転移）[18]。また、溶解度差が大きくなるにつれて、溶液媒介相転移速度は速くなると考えられる。そこで、4.2 節に記載した手順で三水和物結晶を含む飽和溶液を作製し、そこに微量の I 形を添加し、複数の温度条件（0、5、10、20°C）での溶液媒介相転移の様子を顕微鏡下で観察した。

図 4.14 に、0、 5、 10、 20°C の溶液中において I 形と三水和物間の溶液媒介相転移の経時変化を観察した結果を示す。まず低温領域の 0-5°C では長時間（少なくとも 2 日間）にわたって I 形と三水和物が共存する状態が維持されることが明らかとなった（図 4.14(a)-(f)）。0-5°C において、 I 形と三水和物の溶解・成長挙動について着目すると、0°C では非常に低速度で I 形が溶解する様子が確認された（図 4.14(a)-(c)）。この結果は、0°C では I 形よりも三水和物の方がより安定な結晶相であり、0°C では三水和物＜ I 形の順で溶解度が高くなることを示している。一方で、5°C では非常に低速度で三水和物の溶解と I 形の成

長が確認された（図 4.14(d)-(f)）。この結果は、5°C では三水和物よりもⅠ形の方がより安定な結晶相であり、5°C ではⅠ形＜三水和物の順で溶解度が高くなることを示している。以上の結果より、0-5°C 間でⅠ形と三水和物の溶解度曲線は交差しており、互変系の関係にあることが明らかとなった。また、0-5°C では溶液媒介相転移速度が非常に低速度であることから、0-5°C におけるⅠ形と三水和物の溶解度差は非常に小さいと考えられる。ちなみに、溶液媒介相転移の実験結果より、0°C においてⅡ形よりもⅠ形の方がより安定な結晶相であることを確認していることから、0°C ではⅠ形＜Ⅱ形の順で溶解度が高くなると考えられる。よって、0°C における溶解度は、三水和物＜Ⅰ形＜Ⅱ形の順となっていることが示唆された。4.4.2 で述べたように 10°C 以上における溶解度はⅡ形＜三水和物となっていることから、0-10°C 間でⅡ形と三水和物の溶解度曲線も交差しており、互変系の関係にあると推察できる。次に、10-20°C でのⅠ形と三水和物間の溶液媒介相転移の様子について述べる。0-5°C の場合と比べて高速度で三水和物の溶解とⅠ形の成長が進行し、10°C では 1 日程度（図 4.l4(g)-(i)）で、20°C では数時間程度（図 4.l4(j)-(l)）でⅠ形への溶液媒介相転移が完了することが分かった。この結果は、4.4.2 で得られた溶解度測定結果と良く対応しており、溶液媒介相転移速度が温度の増加とともに速くなるのは、温度が増加するにつれてⅠ形と三水和物の溶解度差が大きくなるためであると考えられる。以上の結果より、低温領域（0-5°C）では、溶液媒介相転移速度が非常に低速であるため、Ⅰ形と三水和物の共存状態が長期間維持されることが示された。一方、10-20°C では溶液媒介相転移速度が比較的速いため、Ⅰ形と三水和物の共存状態が長期間維持されず、1 日以内に溶液中の結晶は全てⅠ形へ転移することが明らかとなった。つまり、もし 0°C で三水和物を結晶化した時に、微量のⅠ形が同時に結晶化してしまった場合、0-5°C 環境下で保持しておくと溶液媒介相転移速度が非常に低速であるため、三水和物は長期間安定に存在できる。一方で、この溶液を 10°C 以上に昇温すると溶液媒介相転移の速度が上昇し、少なくとも 1 日以内に溶液中の三水和物は全てⅠ形へ転移してしまう。よって、これまで三水和物が 0°C でのみ安定に存在でき、5°C よりも高い温度にすると安定に存在できないとされてきた理由は、三水和物以外にも微量のⅠ形が同時に結晶化していたためであると考えられる。もし三水和物のみを選択的に結晶化できていれば、昇温したとしても 4.4.1 で示したように三水和物が溶解するだけで、Ⅰ形への相転移は起きないと考えられる。つまり不安定な多形を制御するには、不安定相のみを選択的に結晶化させることが極めて重要であり、本研究で使用したポリマーは三水和物を選択的に結晶化制御するのに非常に有効な手法であることを示している。

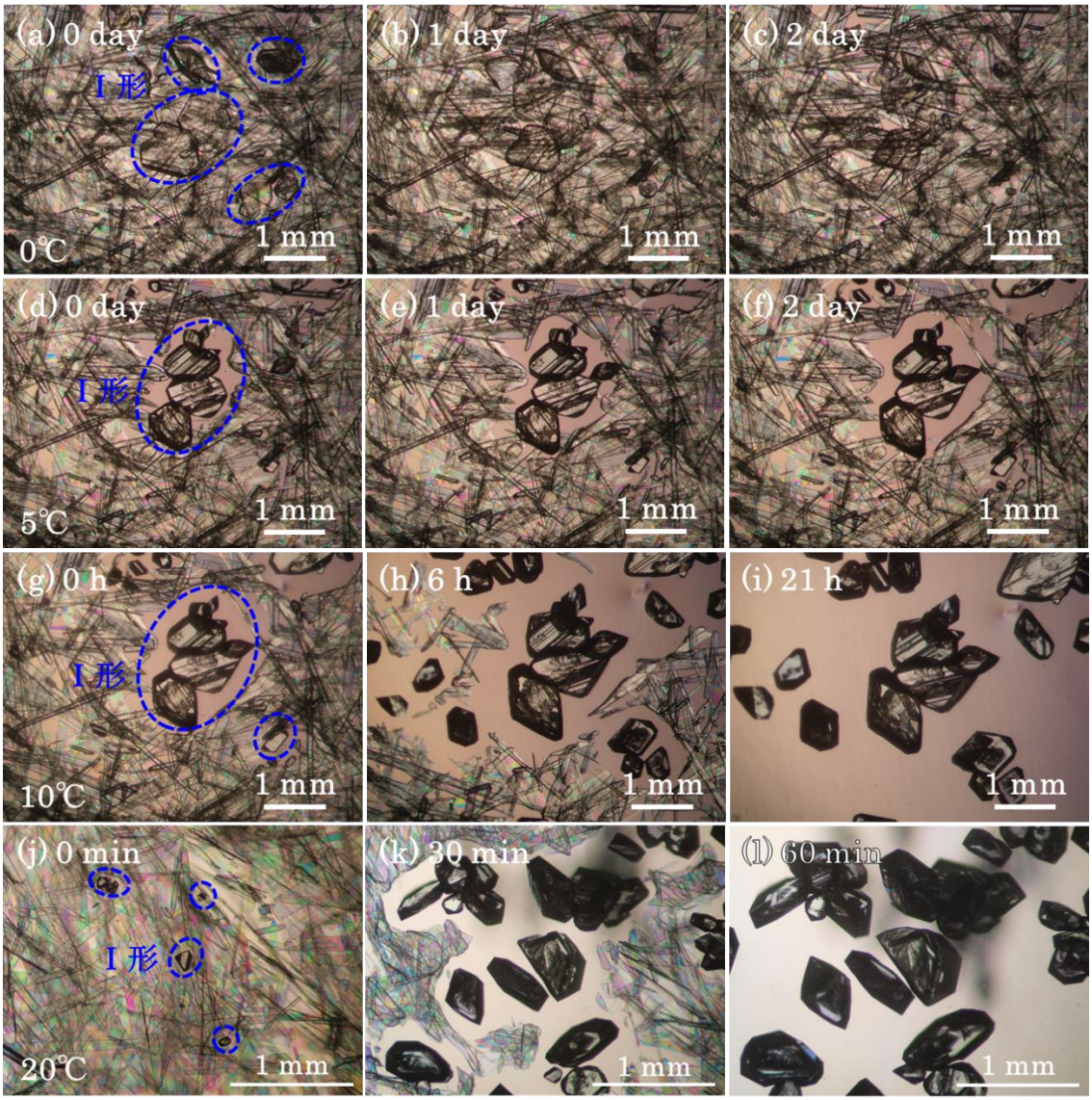


図 4.14　I 形と三水和物間の溶液媒介相転移の温度依存性

(a)-(c)0°C、(d)-(f)5°C、(g)-(i)10°C、(j)-(l)20°C

4.5　まとめ

本章では、バルク状ポリマー界面を利用した結晶化技術によるアセトアミンフェン三水和物結晶化制御法についてまとめた。主成分がアクリル変成シリコーンポリマーである接着剤を固化させたものをバルク状ポリマーとしてアセトアミノフェン水溶液に添加することで、三水和物の結晶化を誘起できることが明らかとなった。三水和物が結晶化する様子をその場観察した結果、バルク状ポリマー界面付近から結晶化が誘起されていたことから、本研究で使用したポリマー表面が三水和物の配向に有利に働いたと考えられる。得られた三水和物結晶は大気中で非常に不安定であり、すぐにⅠ形もしくはⅡ形へ転移することが分かった。一方で、得られた三水和物結晶は温度に関わらず溶液中で安定に存在できることを明らかにした。この理由として、本技術により他の多形が混じることなく選択的に三水和物が結晶化しているためであると考えられる。また、本研究において三水和物の溶解度曲線の作成が初めて実現し、10-30°C の温度領域では、Ⅰ形＜Ⅱ形＜三水和物の順で溶解度が高くなることが分かった。さらに、三水和物とⅠ形及びⅡ形との溶解度差は温度が増加するにつれて大きくなることが明らかとなった。

参考文献

[1] M. Lang, A.L. Grzesiak, and A.J. Matzger, J. Am. Chem. Soc. **124** (2002) 14834.

[2] C.P. Price, A.L. Grzesiak, and A.J. Matzger, J. Am. Chem. Soc. **127** (2005) 5512.

[3] A.L. Grzesiak, F.J. Uribe, N.W. Ockwig, O.M. Yaghi, and A.J. Matzger, Angew. Chem. Int. Ed. **45** (2006) 2553.

[4] A.L. Grzesiak, and A.J. Matzger, Inorg. Chem. **46** (2007) 453.

[5] V. Lopez-Mejias, J.L. Knight, C.L. Brooks, and A.J. Matzger, Langmuir **27** (2011) 7575.

[6] A.A. McClelland, V. López-Mejías, A.J. Matzger, and Z. Chen, Langmuir **27** (2011) 2162.

[7] E. Curcio, V. López-Mejías, G. Di Profio, E. Fontananova, E. Drioli, B.L. Trout, and A.S. Myerson, Cryst. Growth Des. **14** (2014) 678.

[8] P.A. McGregor, D.R. Allan, S. Parsons, and C.R. Pulham, J. Pharm. Sci. **91** (2002) 1308.

[9] K. Momma, and F. Izumi, J. Appl. Crystallogr. **44** (2011) 1272.

[10] Y. Horie, and T. Sumitani, Private Communication

[11] E.G. Denk, and G.D. Botsaris, J. Cryst. Growth **13–14** (1972) 493.

[12] M.L. Peterson, D. McIlroy, P. Shaw, J.P. Mustonen, M. Oliveira, and Ö. Almarsson, Cryst. Growth Des. **3** (2003) 761.

[13] K. Kachrimanis, D.E. Braun, and U.J. Griesser, J. Pharm. Biomed. Anal. **43** (2007) 407.

[14] J.F. Kauffman, L.M. Batykefer, and D.D. Tuschel, J. Pharm. Biomed. Anal. **48** (2008) 1310.

[15] A. Łuczak, L.J. Jallo, R.N. Dave, and Z. Iqbal, Powder Technol. **236** (2013) 52.

[16] J.B. Nanubolu, and J.C. Burley, CrystEngComm **17** (2015) 5280.

[17] Y. 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, Appl. Phys. Express **8** (2015) 65501.

[18] P.T. Cardew, and R.J. Davey, Proc. R. Soc. London **A398** (1985) 415.

第 5 章 溶液媒介相転移を用いた準安定形の結晶化制御

5.1 はじめに

3.4.2 で述べたように、現状の超音波照射による結晶化技術の場合、ある程度の高過飽和条件にしないとアセトアミノフェンⅡ形（準安定形）の結晶化を誘起することはできない。しかしながら、この高過飽和条件は、福喜多によりⅡ形の経時安定性低下を招く要因の一つであることが示されている[1]。さらに、3.7.8 で示したように、同様の周波数条件（45 kHz）で超音波を照射しても、サンプルの容器サイズ・溶液量が異なると、Ⅱ形の結晶化確率は大きく変化してしまうことが分かっている。これは、容器サイズ・溶液量の変更に伴い、容器内に伝わる超音波条件が変化するためであると考えられる。つまり、現状の超音波照射による結晶化技術をスケールアップしてⅡ形を大量生産することは容易ではなく、Ⅱ形の産業化を見据えると、他のⅡ形生産方法が必要になると考えられる。そこで本章では、超音波照射に代わる新たなⅡ形結晶化制御技術の開発に取り組んだ。

5.2 準安定形結晶への溶液媒介相転移

2.5.2 で述べたように、一般に溶液中に複数の多形が共存すると、準安定形（溶解度の高い多形）の溶解及び安定形（溶解度の低い多形）の成長が進み、最終的に全ての結晶が安定形へと転移することが知られている（溶液媒介相転移）[2]。また、溶液媒介相転移速度は多形間の溶解度差に起因しており、溶解度差が大きくなるにつれて転移速度は速くなると考えられる。この溶液媒介相転移という現象は、結晶多形を有する様々な化合物において観察されているが、通常観察されるのは最安定形への転移である[3–5]。アセトアミノフェンの場合においても、これまで 3 種類の溶液媒介相転移が報告されているが、いずれも最安定形であるⅠ形への転移である。Sudha らは、アセトアミノフェン水溶液の急冷結晶化法により得られたⅡ形は 30 分程度で、Ⅲ形は 7 秒程度でⅠ形に溶液媒介相転移することを確認している[6]。また、Peterson らは、アセトアミノフェン水溶液を 0°C に冷却することで結晶化させた三水和物は、5°C より高温に昇温するとⅠ形に溶液媒介相転移することを報告している[7]。一方で、溶液媒介相転移は原理的に準安定形間でも起こりうる現象であり、準安定形を得る手段にもなり得る。溶液媒介相転移により準安定形結晶を得る方法について図 5.1 の溶解度曲線を用いて説明する。ここでは、3 つの多形（安定形（s）、準安定形（m1、m2））を持つ物質について考える。ただし、多形の溶解度は、安定形(s)＜準安定形（m1）＜準安定形（m2）の順で高くなるとする。例えば、濃度Cの溶液を温度 A から冷却することで過飽和を生成し、温度 B（s、m1、m2 いずれも過飽和）において、最も不安定な相である m2 のみが核発生する場合を考える。溶液濃度Cは m2 にとって過飽和にあるため、m2 の成長が進み、結果として溶液濃度は低下し、最終的に溶液濃度は m2 の溶解度であるC_{m2}で停止する。溶液濃度C_{m2}は s、m1 にとって過飽和にあることから、s、m1 いずれも核発

生する可能性があるが、ここではオストワルドの段階則に従い、より不安定な相である m1 が核発生する場合を考える。溶液濃度C_{m2}は m1 にとって過飽和にあるため、m1 の成長が進み、結果として溶液濃度はC_{m2}以下に低下する。すると m2 にとっては未飽和となってしまうため、m2 の溶解が開始する。このように m1 の成長と m2 の溶解が継続される結果、溶液濃度は最終的に m1 の溶解度であるC_{m1}に到達し、溶液中の結晶は全て準安定形（m1）へと転移すると考えられる。つまり、溶液媒介相転移により準安定形を得るためには、その化合物が 3 つ以上の多形を有し、かつ所望の準安定形よりも高い溶解度を持つ多形を結晶化制御できる場合に限られる。実際に Okamoto らは、4-[[2-[N-(5-Methylfuran-2-sulfonyl)-N-isopropylamino]-5- (trifluoromethyl) phenoxy]methyl] benzoic acid（AE1-923）の準安定形を溶液媒介相転移により結晶化制御することに成功している[8]。以下にその内容を簡単に記載する。AE1-923 は 3 つの多形（A-form、B-form：準安定形、C-form：安定形）を持ち、結晶化を行う温度範囲において溶解度は C-form＜B-form＜A-form の順となっている。まず貧溶媒法により A-form を結晶化させた後、溶液温度を昇温することで B-form への溶液媒介相転移が誘起され、A-form の溶解と B-form の成長を経て、最終的に準安定形である B-form を結晶化制御できると報告している。また、スケールアップにも取り組んでおり、溶液媒介相転移により 95%の収率で 19 kg の B-form 結晶を生産できることを実験的に示し、溶液媒介相転移を用いた結晶化制御法は産業規模での準安定形結晶化に有効であると述べている。本研究では、第 4 章で述べたように、バルク状ポリマー界面を用いた結晶化技術により、アセトアミノフェン三水和物を結晶化制御することに成功した。さらに、溶解度測定の結果、10-30°C の温度領域では、三水和物はⅡ形よりも高い溶解度を持つことを明らかにした。この実験結果に基づいて、アセトアミノフェンにおいてもⅡ形と三水和物間の溶液媒介相転移により準安定形であるⅡ形の結晶化制御が可能であると考えられる。ちなみに、Ⅱ形と三水和物の溶解度の関係が明らかになっていなかった、さらに 5°C より高温領域において三水和物からⅠ形への溶液媒介相転移を防ぐことが困難であった等の理由により、このような取り組みはこれまでに行われていない。そこで本章では、溶液媒介相転移という現象に着目し、新しいアセトアミノフェンⅡ形結晶化制御技術の開発に取り組んだ。

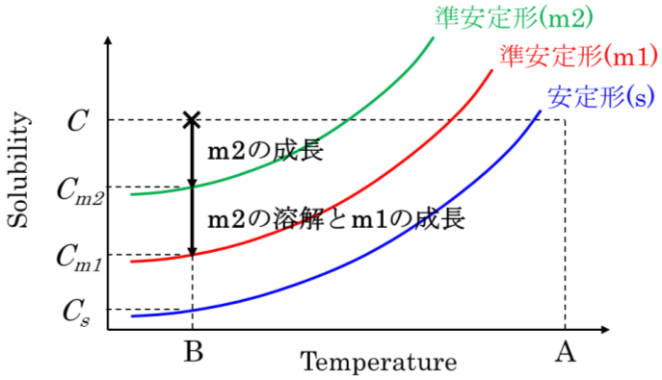


図 5.1　準安定形への溶液媒介相転移過程

5.3　溶液媒介相転移によるⅡ形結晶の育成

溶液媒介相転移によりアセトアミノフェンⅡ形（準安定形）を得る手順について説明する。まず 4.2 節で述べたように、アセトアミノフェン水溶液からバルク状ポリマー界面を用いた結晶化技術により、Ⅱ形よりも高い溶解度を有する三水和物を結晶化させる。次に、3.7 節で述べたように超音波照射結晶化技術により、種結晶として使用するⅡ形結晶を準備する。その後、三水和物結晶を含む飽和水溶液にⅡ形結晶を添加し、Ⅱ形と三水和物が共存する状態を意図的に作製する。Ⅱ形結晶添加をきっかけに、溶液媒介相転移が誘起され、三水和物の溶解とⅡ形の成長が進行し、Ⅱ形結晶が育成できると考えられる。以下に詳細な実験方法を示す。

3.3.4 で述べた手順と同じように、Acros 社製のアセトアミノフェン I 形粉末（純度：98%）を超純水に加え、溶解及び濾過を行った後、冷却することでアセトアミノフェンを再結晶化させた。この再結晶化した結晶は粉末 X 線回折測定により、I 形であることを確認しており、本実験ではこの精製 I 形結晶を原料として使用した。また、溶媒として超純水（18.2 MΩ cm）を使用した。アセトアミノフェン精製 I 形原料を超純水に加え、濃度 44 mg/ml の溶液を調製した。温度 70°C に加熱し溶解させ、3 時間後に濾過（粒子保持能：0.2 μm）を経て、4.2.1 に記載した方法で作製したバルク状ポリマーを入れた 19 ml バイアル瓶に 1.7 ml の溶液を分注した。これを冷却速度 3°C /h で 0°C まで冷却して、過飽和条件（$\sigma_I = 5.4$）にすることで三水和物を結晶化させた。4.4.2 で示したように低温領域ではⅡ形と三水和物の溶解度差が非常に小さいため、溶液媒介相転移は進行しにくく、長期間にわたってⅡ形と三水和物が共存する状態が維持されると考えられる。そこで本実験では、三水和物結晶を含む飽和水溶液の温度を、Ⅱ形と三水和物の溶解度差が 10 mg/ml と比較的大きい 20°C まで昇温し、図 5.2 に示すような三水和物結晶を含む 20°C の飽和水溶液を準備した。次に、3.7 節で述べたように、超音波結晶化技術を用いて、種結晶として使用するⅡ形結晶を含む飽和水溶液を作製した（図 5.3(a)）。その後、ピペットを用いてⅡ形微結晶を含む水溶液（溶液量：20-180 μl、Ⅱ形結晶の個数：約 10-90）を三水和物結晶が含まれる 20°C の飽和水溶液へと滴下した（図 5.3(b)）。このようにして溶液中においてⅡ形結晶と三水和物結晶が共存する状態を作り出し、溶媒媒介相転移を通してⅡ形結晶の成長を試みた。また、図 5.4 は本実験で予測される水溶液の濃度変化推移を表したものである。濃度 44 mg/ml のアセトアミノフェン水溶液を 0°C まで冷却（図 5.4 の過程(a)）させ、三水和物が結晶化すると、濃度 44 mg/ml は三水和物にとって過飽和にあるため、三水和物の成長が進み、結果として溶液濃度は低下し、最終的に溶液濃度は 0°C における三水和物の溶解度$C_{Tri(0)}$で停止する（図 5.4 の過程(b)）。三水和物結晶を含む飽和水溶液の温度を 20°C まで昇温すると、温度上昇に伴い三水和物結晶の一部が溶解するため、溶液濃度は三水和物の溶解度曲線に沿って増加し、最終的に溶液濃度は 20°C における三水和物の溶解度$C_{Tri(20)}$まで増加すると考えられる（図 5.4 の過程(c)）。ここに、Ⅱ形結晶が添加されると、溶液濃度$C_{Tri(20)}$はⅡ形にとって過飽和にあるため、Ⅱ形の成長が進み、結果として溶液濃度は低下する。すると三

水和物にとっては未飽和となってしまうため、三水和物の溶解が開始する。このようにⅡ形の成長と三水和物の溶解が継続される結果、最終的に溶液濃度は 20°C におけるⅡ形の溶解度$C_{II(20)}$に到達し、溶液中の結晶は全てⅡ形へと転移すると考えられる（図 5.4 の過程(d)）。

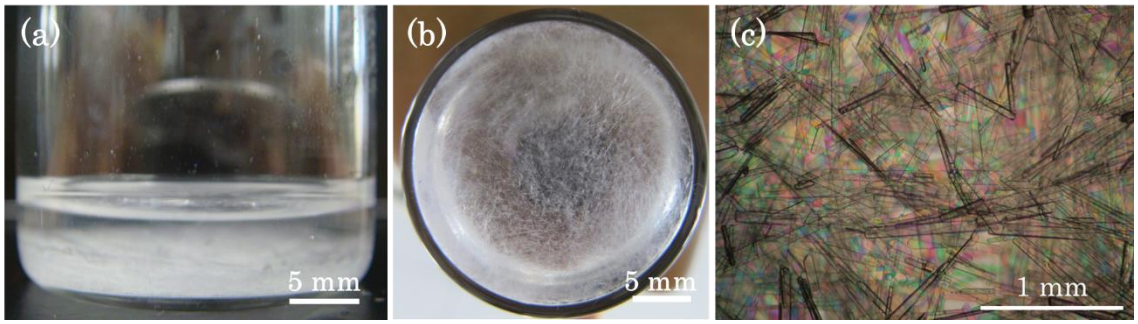


図 5.2　三水和物結晶を含む飽和水溶液（20°C）：(a)側面図、(b)底面図、(c)顕微鏡写真

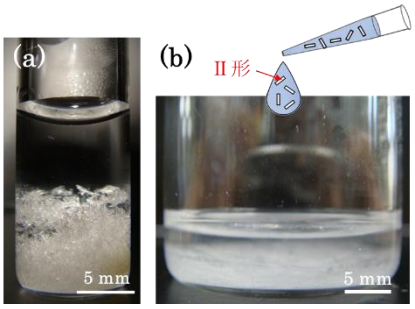


図 5.3　(a)種結晶として添加するⅡ形結晶、(b)Ⅱ形種結晶添加方法

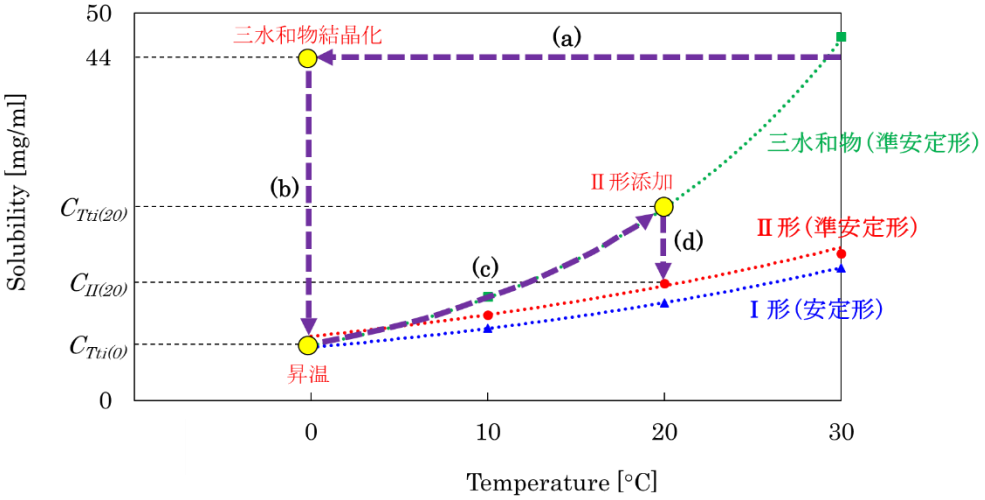


図 5.4　本実験で予測されるアセトアミノフェン水溶液の濃度変化推移：(a)水溶液の冷却過程、(b)三水和物結晶化による濃度低下、(c)温度上昇による濃度増加、(d)溶液媒介相転移による濃度低下

図 5.5 にⅡ形結晶を含む飽和水溶液（溶液量：20 μl、Ⅱ形結晶の個数：約 10）添加後の三水和物とⅡ形結晶の経時変化を顕微鏡下で観察した結果を示す。三水和物結晶を含む飽和水溶液にⅡ形結晶を添加すると、時間とともに、Ⅱ形の成長及び三水和物の溶解が徐々に進行し、Ⅱ形添加後から 4 時間程度で溶液中の結晶は全てⅡ形となった。図 5.6(a-b)に溶液媒介相転移完了後のバイアル瓶側面及び底面から撮影した写真を示す。また、図 5.6(c)は溶液媒介相転移により得られた結晶の粉末 X 線回折パターンを示しており、Ⅰ形とⅡ形の粉末 X 線回折パターンが記載されている文献[9]と比較した結果、Ⅱ形であることを確認した。また、三水和物からⅡ形への溶液媒介相転移完了後、少なくとも 2 日間溶液中でⅡ形結晶を保持し続けたが、Ⅰ形への溶液媒介相転移は確認できなかった。以上の結果は、元の三水和物結晶を含む飽和水溶液及び添加したⅡ形飽和水溶液にⅠ形が含まれておらず、さらに溶液媒介相転移中及び完了後に新たにⅠ形が核発生していないことを示唆している。また、溶液媒介相転移を誘起するために添加するⅡ形結晶を含む飽和水溶液量を 180 μl（Ⅱ形結晶の個数：約 90）に増やした条件における三水和物とⅡ形結晶の経時変化を図 5.7 に示す。Ⅱ形添加後から 30 分程度で溶液中の結晶は全てⅡ形となることを確認した。図 5.8 に溶液媒介相転移完了後のバイアル瓶側面及び底面から撮影した写真を示す。図 5.6 と比較して、最終的に得られるⅡ形結晶個数は増加し、結晶サイズが小さくなっていることが分かる。以上の結果より、Ⅱ形の産業化を考えるとⅡ形結晶を得るまでの時間が短くでき、かつ錠剤にする際に有利である小さな結晶を得るためには、多量のⅡ形を添加することが好ましいと考えられる。以上の結果より、三水和物からⅡ形への溶液媒介相転移というのはⅡ形を得る新しい方法として、非常に有効であることが明らかとなった。また、本実験では、溶液媒介相転移を誘起するために、Ⅱ形結晶を含む飽和水溶液を添加しているが、乾燥させたⅡ形結晶を添加しても同様にⅡ形結晶を育成できることを確認している。しかしながら、Ⅰ形結晶の混入を防ぐため、使用するⅡ形結晶は添加する前に大気中で注意深く乾燥させる必要がある。これは、Ⅱ形結晶を溶液から取り出して大気中で乾燥させる際に、結晶に付着した溶液が蒸発することでⅠ形が結晶化する可能性があるためである。図 5.9 に溶液媒介相転移によりⅡ形を得る手順をまとめる。

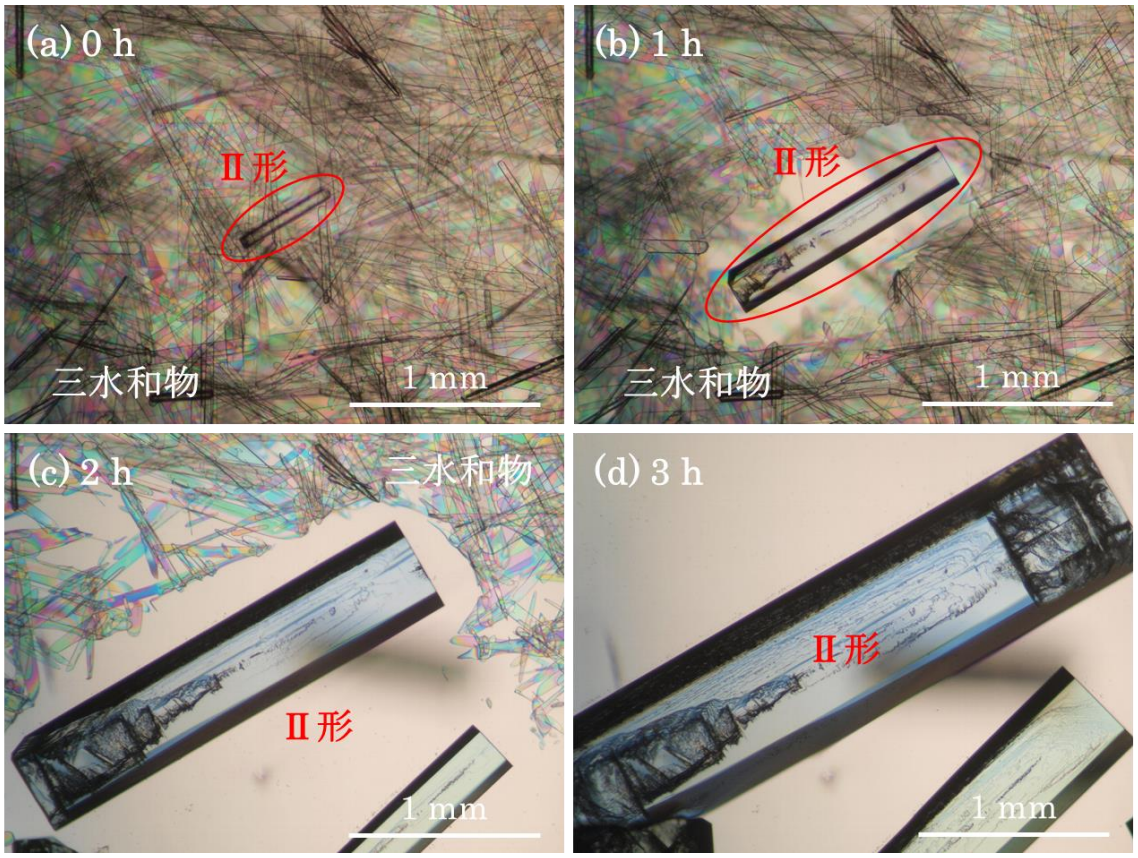


図 5.5　溶液媒介相転移によるⅡ形結晶成長の様子（添加したⅡ形結晶の個数：約 10）
(a)Ⅱ形結晶添加直後、(b)1 h 後、(c)2 h 後、(d)3 h 後

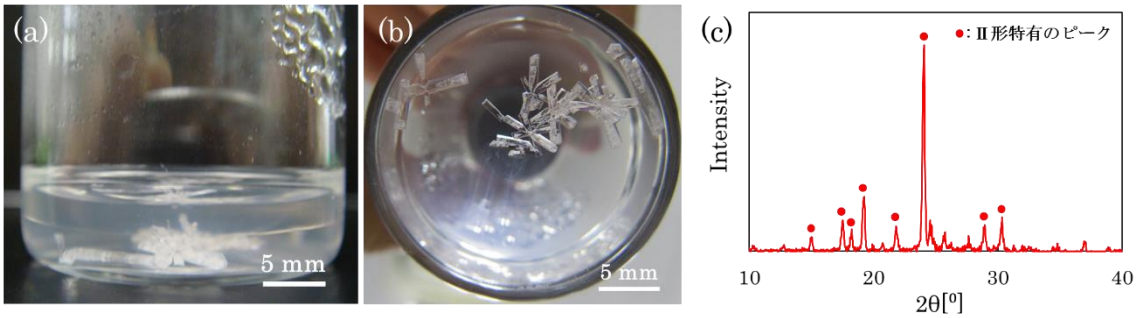


図 5.6　(a-b)溶液媒介相転移完了後の様子（添加したⅡ形結晶の個数：約 10）
(c)得られた結晶の粉末 X 線回折パターン

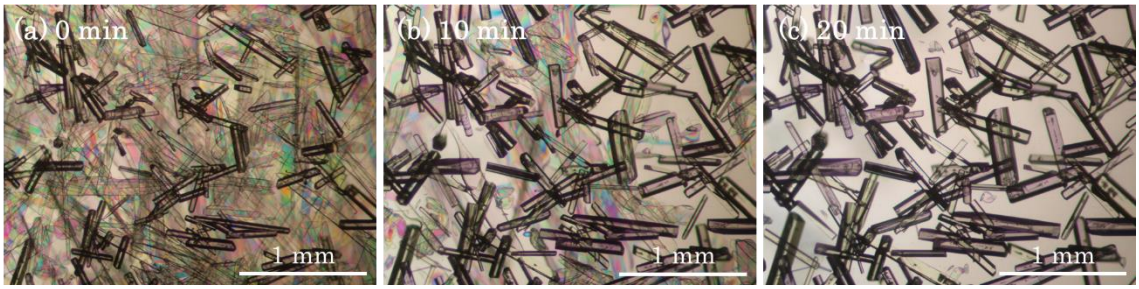


図 5.7　溶液媒介相転移によるⅡ形結晶成長の様子（添加したⅡ形結晶の個数：約 90）
(a)Ⅱ形結晶添加直後、(b)10 min 後、(c)20 min 後

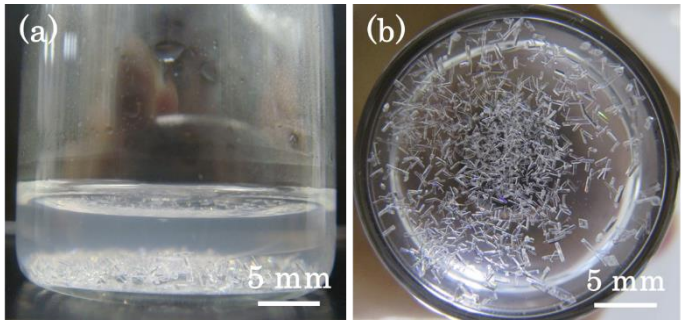


図 5.8　溶液媒介相転移完了後の様子（添加したⅡ形結晶の個数：約 90）
(a)側面図、(b)底面図

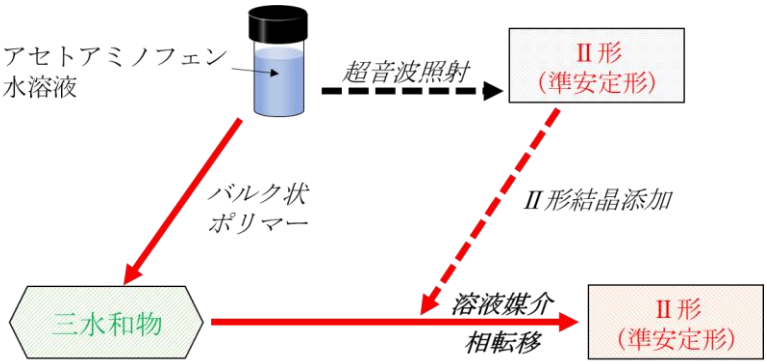


図 5.9　溶液媒介相転移によりⅡ形結晶を得る手順

5.4　Ⅱ形結晶の経時安定性評価

3.6 節で述べた方法と同様にして、溶液媒介相転移により育成したⅡ形（5 サンプル）を大気中に取り出し乾燥させた後、粉末状にして加速試験下（温度 40±2°C、湿度 80%±5%）で保存した。また、経時安定性を評価する指標として、3.6 節と同様に粉末 X 線回折パターンから相対強度比[$P_{II}/(P_I+P_{II})$]を求めることで、Ⅱ形の経時安定性を評価した。P_I は I 形特有のピークである 26.5°のピーク強度、P_{II} はⅡ形特有のピークである 24°のピーク強度を表

している。相対強度比が高い程Ⅱ形を維持しており、値が下がるにつれてⅠ形へ転移していることを示している。

図 5.10 は加速試験におけるⅡ形結晶の相対強度比の時間変化をまとめた結果である。比較用にアセトアミノフェン過飽和水溶液（$\sigma_{II} = 3.3$）に超音波照射することで得られたⅡ形結晶（7 サンプル）の経時安定性を評価した結果も併せて載せている（詳細は 3.6 節に記載）。ここで、相対強度比が 0.9 に到達するまでの時間をⅡ形の経時安定性としたとき、溶液媒介相転移、超音波照射それぞれの手法から得られたⅡ形の経時安定性の平均値をまとめた結果を図 5.11 に示す。図 5.11 のエラーバーは 90%信頼区間を表している。図 5.11 に示すように、超音波照射により得られたⅡ形の経時安定性の平均は約 17 時間であったのに対し、溶液媒介相転移により得られたⅡ形の経時安定性の平均は約 137 時間であった。この結果より、超音波照射により得られたⅡ形と比べて、溶液媒介相転移により得られたⅡ形の方が経時安定性に優れることが明らかとなった。3.6 節で述べたように、福喜多は、超音波照射により得られるⅡ形の結晶品質と経時安定性の関係に着目し、低過飽和及び高過飽和からそれぞれ得られる典型的なⅡ形結晶（欠陥領域のない結晶、欠陥領域のある結晶、いずれも as-grown 結晶である）のⅠ形への転移挙動（経時安定性）を加速試験にてラマン分光法を用いて調査している[1]。その結果、欠陥領域のないⅡ形結晶の多くは 166 日間Ⅱ形を維持していたのに対し、欠陥領域のあるⅡ形結晶の多くは 7 日でⅠ形へ転移することを確認している。このことから、Ⅱ形の経時安定性は、結晶欠陥の有無によって大きく異なり、経時安定性の向上には結晶欠陥の低減が重要であることが明らかとなった。さらに福喜多は、この結晶欠陥の形成過程を確認するために、アセトアミノフェンⅡ形結晶成長のその場観察を、種結晶法を用いて行っている。結晶欠陥の形成と成長速度の関係を調査したところ、高速成長時に欠陥領域が形成され、低速成長時に欠陥領域が消失すると報告している。このことから、欠陥の低減、つまりⅡ形の経時安定性向上には、低速度で成長させるこが有効であることが分かった。本実験において超音波照射により得られたⅡ形は、過飽和度$\sigma_{II} = 3.3$の溶液から一気に結晶化させている。一方、溶液媒介相転移の場合、過飽和度$\sigma_{II} = 0.7$の溶液（三水和物の 20°C における飽和濃度）からⅡ形を徐々に成長させている。つまりⅡ形結晶の低速成長が実現した結果として、Ⅱ形結晶中に形成される欠陥領域の量が低減し、Ⅱ形の経時安定性が向上したのではないかと考えられる。図 5.11 に示すように、溶液媒介相転移により得られたⅡ形結晶の経時安定性はサンプルにより大きくばらついているが、これは種結晶として添加するⅡ形の品質が制御できていないためであると考えられる。種結晶として添加するⅡ形結晶は超音波照射を用いて作製しており、得られた多数のⅡ形結晶は結晶ごとに品質（欠陥領域の有無）にばらつきがある。よって、溶液媒介相転移を誘起する際にどのようなⅡ形結晶が添加されるかにより、最終的に得られるⅡ形結晶の品質、つまり経時安定性に大きく影響したのではないかと考えられる。

また、溶液媒介相転移により得られるⅡ形の経時安定性をさらに向上させることは可能である。上述したように、Ⅱ形の経時安定性向上には、欠陥領域の低減、つまり低速度でⅡ

形を成長させることが有効である。2.5.2 で述べたように、溶液媒介相転移を用いてⅡ形結晶を成長させる場合、Ⅱ形結晶の成長速度はⅡ形と三水和物間の溶解度差に起因し、溶解度差が小さいほど、Ⅱ形の成長速度は低下する。4.4.2 で述べたように、Ⅱ形と三水和物の溶解度差は温度によって大きく異なっており、温度が増加するにつれてⅡ形と三水和物の溶解度差は大きくなることが分かっている。このことから、本実験では 20°C で溶液媒介相転移によりⅡ形を成長させたが、Ⅱ形と三水和物間の溶解度差がより小さくなる低温領域（< 20°C）において溶液媒介相転移を行うことで、Ⅱ形の低速成長及び欠陥領域の低減が実現し、結果としてⅡ形の経時安定性が向上すると考えられる。実際に藤本は、10°C においてⅡ形と三水和物間の溶液媒介相転移を用いてⅡ形の成長を行っている[10]。その結果、育成温度が 20°C の場合、成長速度が平均 1.6 mm/h 程度（長軸方向）であったのに対し、育成温度が 10°C の場合、成長速度を平均 5 μm/h 程度（長軸方向）まで抑制することができ、かつ得られた結晶の多くは欠陥領域のない高品質な結晶であった。さらに、10°C で成長させたⅡ形結晶の経時安定性を評価したところ、20°C で成長させたⅡ形結晶に比べて経時安定性が向上することを確認している。このことから、低温環境下においてⅡ形と三水和物間の溶液媒介相転移を用いることで、経時安定性に優れるⅡ形結晶を作製することが可能であることが示された。

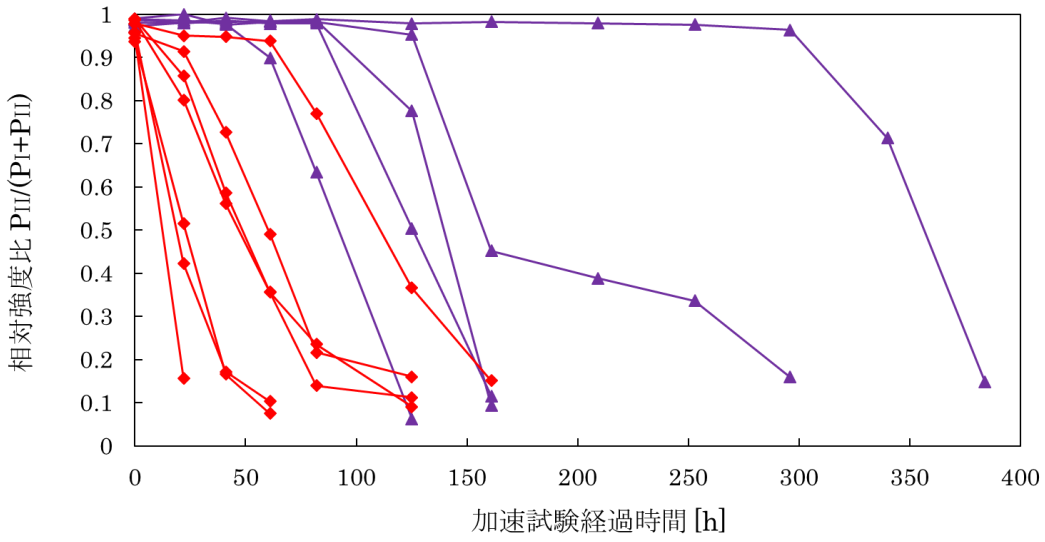


図 5.10　加速試験におけるⅡ形結晶の相対強度比の経時変化
紫色線：溶液媒介相転移により得られたⅡ形、赤色線：超音波照射により得られたⅡ形

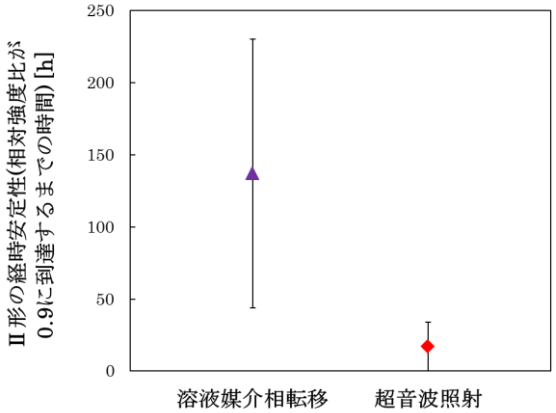


図 5.11　加速試験における溶液媒介相転移、超音波照射により得られたⅡ形の経時安定性
シンボル：Ⅱ形の経時安定性の平均値、エラーバー：90%信頼区間

5.5　大容量条件での溶液媒介相転移によるⅡ形結晶の育成

4.2 節で述べたように、アセトアミノフェン水溶液にバルク状ポリマーを入れておくだけで三水和物の結晶化が誘起されることから、三水和物結晶の大量生産は非常に容易である。実際に溶液量 0.8 ml-15 ml スケールにわたって容易に三水和物を結晶化できることを確認している。そこで、5.3 節では三水和物結晶を含む飽和水溶液量が 1.7 ml であったのに対し、本節では溶液量 15 ml に増やした条件で三水和物からⅡ形への溶液媒介相転移を試みた。

アセトアミノフェン精製Ⅰ形原料を超純水に加え、濃度 50 mg/ml の溶液を調製した。温度 70°C に加熱し溶解させ、3 時間後に濾過（粒子保持能：0.2 μm）を経て、4.2.1 に記載した方法で作製したポリマーを入れた 19 ml バイアル瓶に 15 ml の溶液を分注した。これを冷却速度 3°C /h で 0°C まで冷却して、過飽和条件（$\sigma_I = 6.3$）にすることで、三水和物を結晶化させた。その後、Ⅱ形と三水和物の溶解度差が比較的大きくなる 20°C に昇温した。次に、5.3 節で述べた方法と同様にして、Ⅱ形微結晶を含む飽和水溶液（20 μl）を三水和物結晶が含まれる 20°C の飽和水溶液へ滴下することで、溶液媒介相転移を開始させた。

図 5.12 はⅡ形結晶添加後の三水和物とⅡ形結晶の経時変化である。三水和物結晶を含む飽和水溶液にⅡ形結晶を添加すると、時間の経過とともに、三水和物の溶解及びⅡ形の成長が徐々に進み、Ⅱ形添加後から 22 時間程度で溶液中の結晶は全てⅡ形となった。このように三水和物結晶を含む飽和水溶液量を 15 ml に増やした条件においても、溶液媒介相転移によりⅡ形結晶を育成することに成功した。図 5.13(a-b)に溶液媒介相転移完了後のバイアル瓶側面及び底面から撮影した写真を示し、図 5.13(c)に溶液から大気中に取り出したⅡ形結晶を示す。以上の結果より、三水和物からⅡ形への溶液媒介相転移によりⅡ形を大量に得ることは原理的に可能であり、本手法はⅡ形の産業化において非常に有効な手段になり得ることが示された。

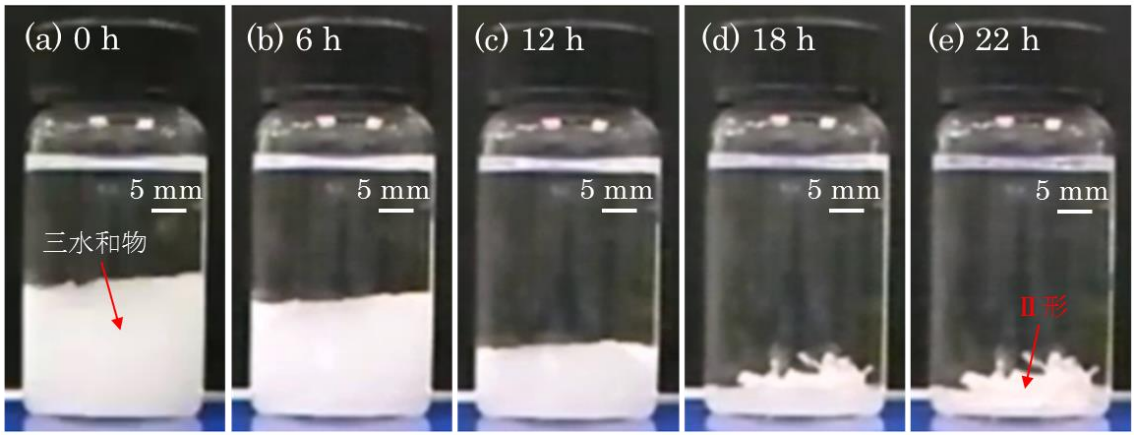


図 5.12　溶液媒介相転移によるⅡ形結晶成長の様子
(a)Ⅱ形結晶添加直後、(b)6h 後、(c)12h 後、(d)18h 後、(e)22h 後

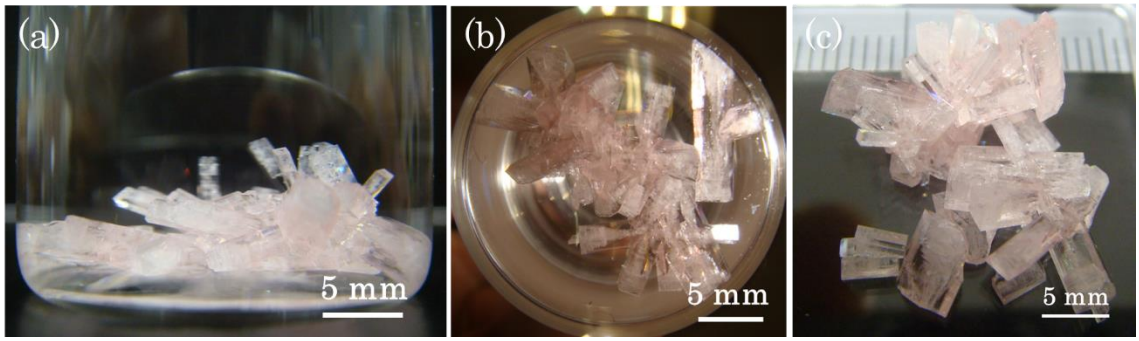


図 5.13　溶液媒介相転移完了後の様子：(a)側面図、(b)底面図、(c)取り出し乾燥後

5.6　Ⅱ形結晶の溶解及び再成長のその場観察

5.6.1　溶液媒介相転移により育成したⅡ形結晶の溶解

溶液媒介相転移（20°C）により育成した代表的なⅡ形結晶を図 5.14 に示す。図 5.14(a)のように欠陥領域のない結晶と図 5.14(b)のように欠陥領域のある結晶があることがわかった。それぞれの結晶の溶解挙動を調査するため、19 ml バイアル瓶内で、溶液媒介相転移（20°C）により育成した複数のⅡ形結晶の中から、ピンセットとピペットを使って、観察するⅡ形結晶を選び出し、ガラスボトムディッシュに飽和溶液ごと移した（溶液量：0.25 ml）。このサンプルをインキュベータ内に設置した顕微鏡ステージに載せ、20°C から 0.5-3°C/h の速度で昇温しながら、Ⅱ形結晶溶解の様子のその場観察を試みた。

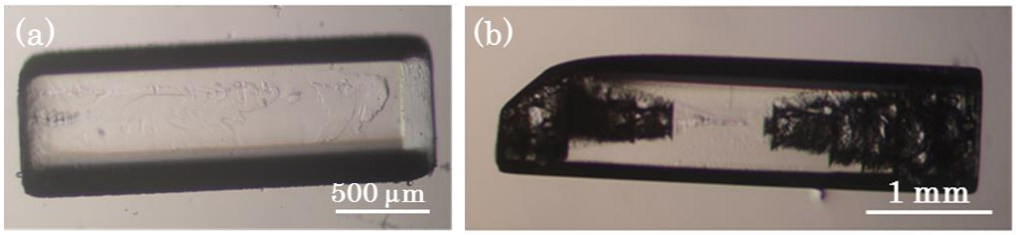


図 5.14　溶液媒介相転移により育成した代表的なⅡ形結晶
(a)欠陥領域のない結晶、(b)欠陥領域のある結晶

図 5.15 に欠陥領域のないⅡ形結晶の溶解をその場観察した結果を示す。図 5.15 に示すように、温度上昇に伴いⅡ形結晶周囲から徐々に溶解していき、次第に小さくなり、最終的に水溶液中へ溶解する様子が観察された。一方、欠陥領域のあるⅡ形結晶の溶解をその場観察した結果を図 5.16 に示す。図 5.16 に示すように、温度上昇に伴い欠陥領域のない結晶と同様にⅡ形結晶周囲から徐々に溶解していくが、溶解途中でⅡ形結晶に穴があく様子が観察された。さらなる温度上昇の結果、完全に欠陥領域が消失し（図 5.16(i)）、最終的に水溶液中へ溶解する様子が観察された。以上の結果より、Ⅱ形結晶中の欠陥領域の有無により、溶解挙動が大きく異なることが明らかとなった。一般に、図 5.14(b)に示す骸晶のような欠陥の部分には溶媒不純物等の混入があることが知られている。図 5.14(b)のように一部分のみ欠陥領域を持つような現象は他の結晶においても見られており、$K_2Zn(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ 結晶の場合、{201}成長セクター内に優先的に溶媒が取り込まれ、{201}成長セクター内に多数の溶媒インクルージョンが形成されると報告されている[11]。これは成長面の表面構造に起因し、特定の表面構造が溶媒分子の取り込みや液胞の形成に有利に働くのではないかと考えられている。また、気相中で育成させた雪結晶の場合においても、図 5.14(b)と類似した骸晶構造を持つ結晶が報告されている[12]。雪結晶の場合、骸晶構造が形成される要因としてベルグ効果が挙げられている。図 5.17 に示すように、溶液中で成長する結晶近傍の濃度分布は均一ではなく、結晶の中央部から端部に向かって濃度が高くなる勾配が生じる（ベルグ効果）[13]。よって結晶面の中央部と比べると端部では過飽和度が高くなるので、結晶面の中央部

と比べると、端部では成長速度が大きくなる。従って、結晶端部の成長が速くなり、結晶の縁がせりあがった結果として骸晶構造が形成されると報告している。今回溶液媒介相転移により育成したアセトアミノフェンⅡ形結晶にも同様の現象が起こっていると考えられる。また、結晶サイズと溶媒インクルージョン形成の関係を調査した事例もあり、$KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ 結晶や NaCl 結晶の場合、ある一定以上の結晶サイズになると溶媒インクルージョンが形成されやすくなると報告されている[14,15]。これは結晶サイズが大きくなるほど成長表面全体への溶質の安定的な供給が難しくなり、結晶表面形態が不安定になる結果として溶媒インクルージョンが形成されると考えられる。図 5.5(d)の右上部分に示される欠陥領域はⅡ形結晶の成長後期に形成されたものであり、これによりアセトアミノフェンⅡ形結晶の場合においても結晶サイズと欠陥形成に関係があることが示唆された。

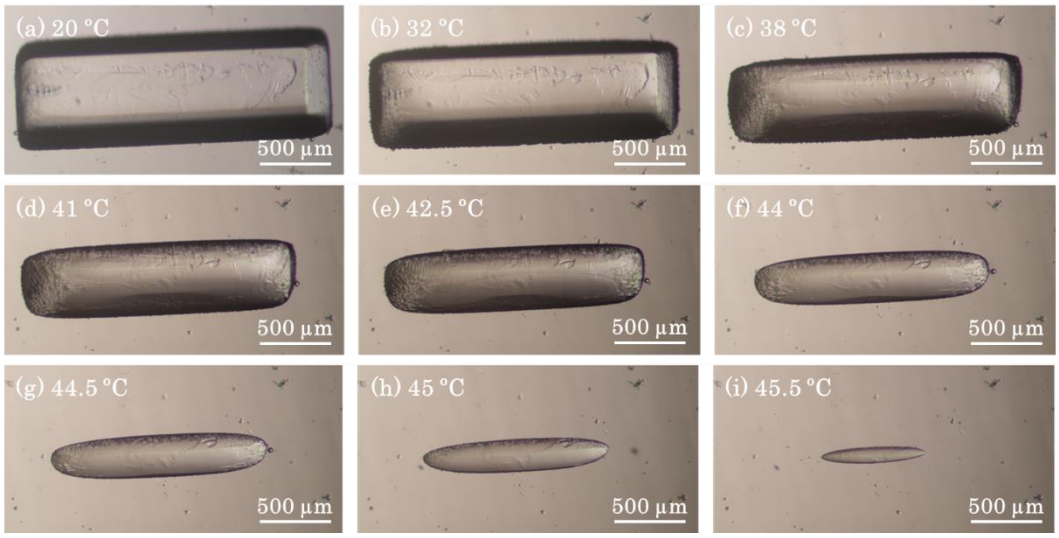


図 5.15　欠陥領域のないⅡ形結晶の溶解の様子

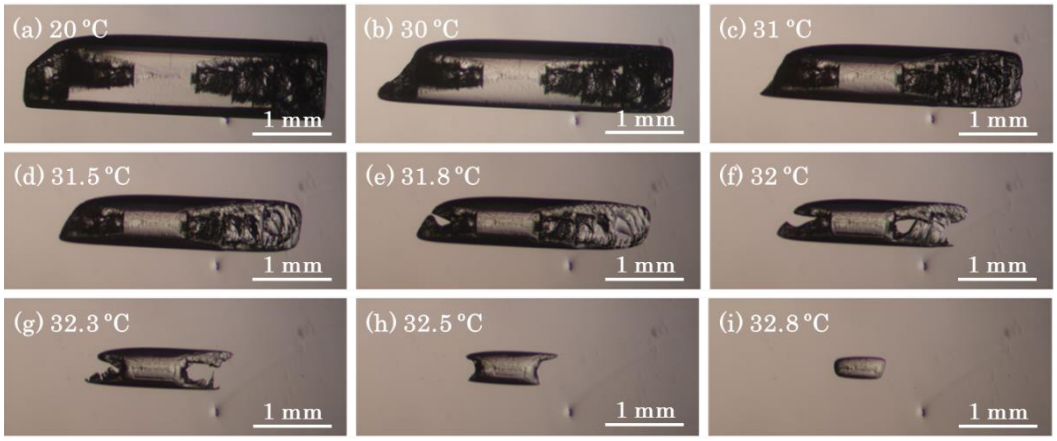


図 5.16　欠陥領域のあるⅡ形結晶の溶解の様子

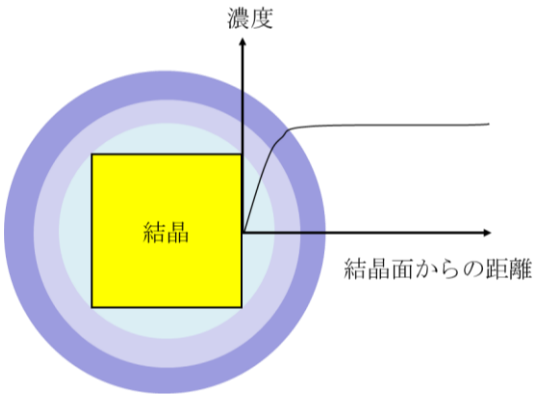


図 5.17　ベルグ効果

5.6.2　溶液媒介相転移により育成したⅡ形結晶の溶解及び再成長

5.6.1 で示したように、欠陥領域のあるⅡ形結晶を溶解していくと、ある時点で欠陥領域が消失する。そこで一度欠陥領域を溶解させて再成長させることにより、Ⅱ形結晶中の欠陥領域を低減できるか検証した。以下に実験手順を示す。19 ml バイアル瓶内で、溶液媒介相転移（20°C）により育成した複数のⅡ形結晶の中から、ピンセットとピペットを使って、観察するⅡ形結晶を選び出し、ガラスボトムディッシュに飽和溶液ごと移した（溶液量 : 0.25 ml）。このサンプルをインキュベータ内に設置した顕微鏡ステージに載せ、20°C から 1-3°C/h の速度で昇温しながら、Ⅱ形結晶の欠陥領域を溶解させた。欠陥領域の溶解を確認した直後に、サンプルを 20°C インキュベータ内に移し、Ⅱ形結晶の再成長を試みた。Ⅱ形結晶の経時変化の観察は、欠陥領域の溶解後、サンプルを 20°C 環境下に移してから 109 時間経過した時点で終了した。

図 5.18 にⅡ形結晶の経時変化をその場観察した結果を示す。温度上昇に伴い欠陥領域は徐々に溶解し、33.5°C において欠陥領域の消失を確認した（図 5.18(f)）。次に、このサンプルを 20°C 環境下に移すと、Ⅱ形結晶の溶解がストップし、Ⅱ形結晶の成長が開始されることを確認した。サンプルを 20°C 環境に移して 109 時間経過した時点で、Ⅱ形結晶は溶解前のⅡ形結晶（図 5.18(a)）とほぼ同じ結晶サイズまで再成長した。また、図 5.18(r)に示すように、再成長させたⅡ形結晶は欠陥領域がほとんど含まれていない透明性の高いⅡ形結晶であった。以上の結果より、一度欠陥領域が含まれるⅡ形結晶が得られても、溶解及び再成長を行うことにより、欠陥領域を低減したⅡ形結晶の育成が可能であることが明らかとなった。

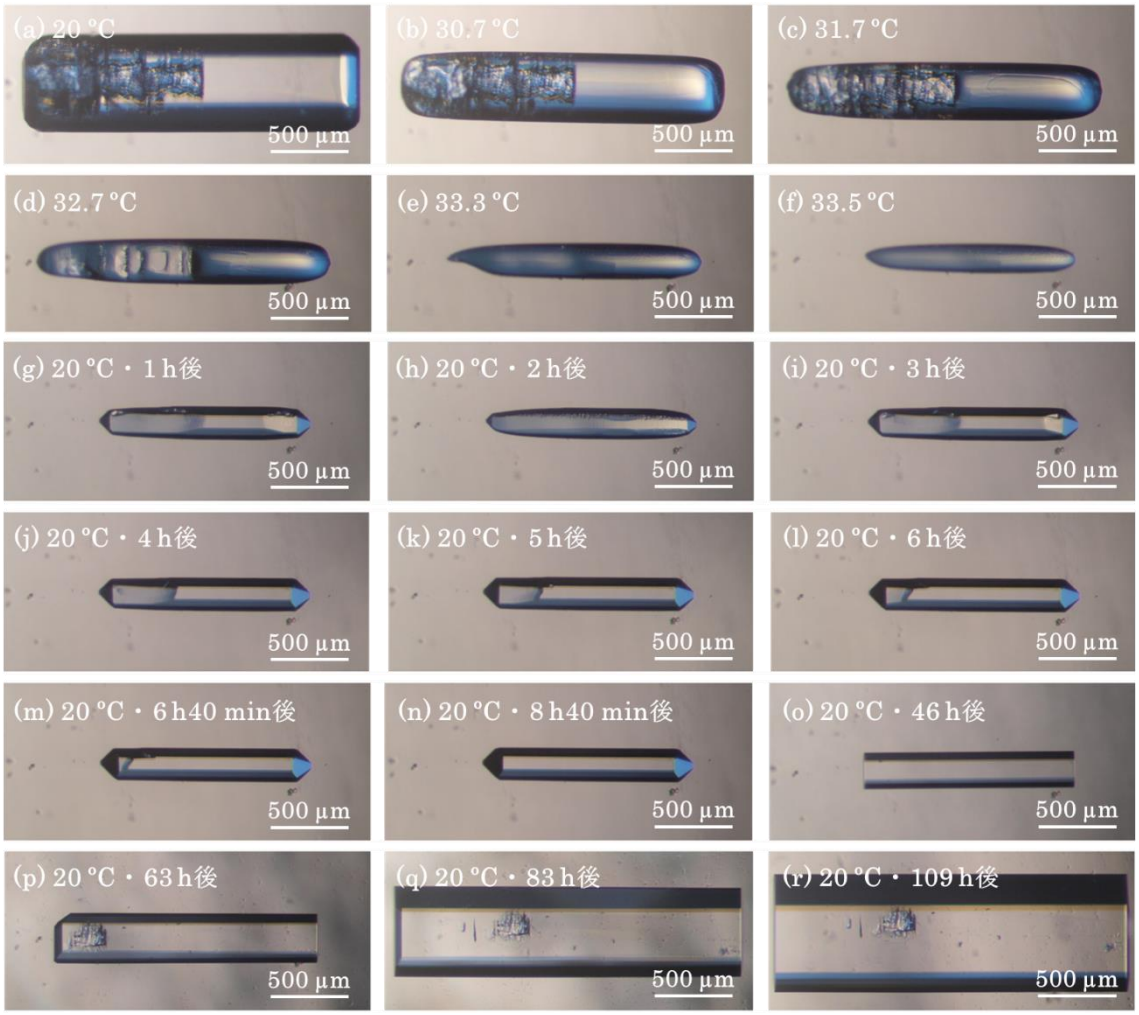


図 5.18　欠陥領域の溶解及び再成長させた時のⅡ形結晶の経時変化

5.7　まとめ

本章では、溶液媒介相転移を用いたアセトアミンフェン準安定形（Ⅱ形）の結晶化制御法についてまとめた。三水和物結晶（Ⅱ形よりも高い溶解度を持つ結晶相）を含む 20°C の飽和水溶液（1.7 ml）にⅡ形結晶を添加すると、時間とともに、Ⅱ形結晶の成長及び三水和物結晶の溶解が徐々に進行し、Ⅱ形結晶添加後から 4 時間程度で溶液中の結晶は全てⅡ形となることを確認した。また、三水和物結晶を含む飽和水溶液量を 15 ml に増やした条件においても、溶液媒介相転移によりⅡ形結晶を育成することに成功した。溶液媒介相転移により育成したⅡ形結晶の経時安定性を評価したところ、超音波照射により得られたⅡ形結晶と比べて経時安定性に優れることが明らかとなった。この理由として、より低速でⅡ形結晶を育成したことにより結晶中に含まれる欠陥領域が低減したためであると考えられる。さらに、低温環境下（10°C）においてⅡ形と三水和物間の溶液媒介相転移を用いることで、Ⅱ形結晶の成長速度を抑制し、より経時安定性に優れるⅡ形結晶を作製することが可能であることも確認している。以上の結果より、本手法により経時安定性に優れるⅡ形結晶を大量に得ることは原理的に可能であり、本手法はⅡ形の産業化において非常に有効な手段になり得ることが示された。また、一度欠陥領域が含まれるⅡ形結晶が得られても、溶解及び再成長を行うことにより、欠陥領域を低減したⅡ形結晶の育成が可能であることを明らかにした。

参考文献

[1] 福喜多俊, 大阪大学大学院工学研究科電気電子情報工学専攻 修士論文, 2016.

[2] P.T. Cardew, and R.J. Davey, Proc. R. Soc. London **A398** (1985) 415.

[3] R.J. Davey, N. Blagden, S. Righini, H. Alison, and E.S. Ferrari, J. Phys. Chem. B **106** (2002) 1954.

[4] E.S. Ferrari, and R.J. Davey, Cryst. Growth Des. **4** (2004) 1061.

[5] A. Maher, D.M. Croker, C.C. Seaton, Å.C. Rasmuson, and B.K. Hodnett, Cryst. Growth Des. **14** (2014) 3967.

[6] C. Sudha, and K. Srinivasan, J. Cryst. Growth **401** (2014) 248.

[7] M.L. Peterson, D. McIlroy, P. Shaw, J.P. Mustonen, M. Oliveira, and Ö. Almarsson, Cryst. Growth Des. **3** (2003) 761.

[8] M. Okamoto, M. Hamano, and H. Ooshima, J. Chem. Eng. Japan **37** (2004) 95.

[9] G. Nichols, and C.S. Frampton, J. Pharm. Sci. **87** (1998) 684.

[10] 藤本吏輝, 森陽一朗, 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, 溶媒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,14p-A25-18, 2016.

[11] G. Dhanaraj, K. Byrappa, V. Prasad, and M. Dudley, Springer Handbook of Crystal Growth, Springer, 2010.

[12] 権田武彦, 日本気象学会 **32** (1985) 101.

[13] W.F. Berg, Proc. R. Soc. A **164** (1938) 79.

[14] J.C. Brice, and T.M. Bruton, J. Cryst. Growth **26** (1974) 59.

[15] P. Slaminko, and A.S. Myerson, AIChE J. **27** (1981) 1029.

第 6 章 結論

6.1 はじめに

本論文では、バイオアベイラビリティに優れた薬剤の実現を目指し、薬となる有機低分子化合物の準安定形結晶化制御に取り組んだ。モデル薬物として、解熱鎮痛薬アセトアミノフェンを使用し、準安定形（Ⅱ形）結晶の結晶化制御及び安定性向上に取り組んだ。溶解プロセスを最適化したアセトアミノフェン過飽和水溶液に超音波照射することで、Ⅱ形を結晶化制御できることに成功した。さらに超音波の効果をより増大させるための手法として、アセトアミノフェン過飽和水溶液内にプラスチック球を入れて超音波照射することで、より高確率かつ短時間でⅡ形を結晶化できることを明らかにした。また、主成分がアクリル変成シリコーンポリマーである接着剤を固化させたものをバルク状ポリマーとしてアセトアミノフェン水溶液内に添加することで、アセトアミノフェン三水和物の結晶化を誘起できることを発見した。さらに、新しいⅡ形結晶化制御技術として、三水和物からⅡ形への溶液媒介相転移によりⅡ形結晶を育成することに成功した。以下に本研究で得られた成果を総括し、将来の展望を述べ、本論文の結論とする。

6.2 本研究で得られた成果

本論文では、第 1 章において本研究の背景を述べた後、第 2 章では結晶多形の理論的背景について説明し、さらにモデル薬物アセトアミノフェンの結晶多形について述べた。第 3 章では、超音波照射によるアセトアミノフェンⅡ形の結晶化制御について記載した。第 4 章では、バルク状ポリマー界面を用いたアセトアミノフェン三水和物の結晶化制御について述べた。第 5 章において、新しいⅡ形結晶化制御技術として、Ⅱ形と三水和物間の溶液媒介相転移に着目し、実施した研究内容について記載した。第 3 章、第 4 章及び第 5 章の研究において得られた成果を以下にまとめる。

第 3 章では、超音波照射によるアセトアミノフェンⅡ形の結晶化制御に取り組んだ。その結果得られた知見を以下にまとめる。

・出発原料中の不純物がⅠ形の結晶化に起因していることを見出した。そこで原料の再結晶化により不純物の低減及び純度の向上を図り、かつ濾過を導入することにより、溶解プロセスの最適化を行った。その結果、これまでにない非常に広範囲の過飽和度領域（$\sigma_{II} = 0.4 - 12$）にわたってⅠ形の自然核発生を抑制できることを明らかにした。

・溶解プロセスの最適化を行った溶液は、過飽和状態溶液（$\sigma_{II} = 0.4 - 12$）にしてから約 5 日経過しても自然核発生が起きなかった。そこで溶液に対して超音波（45 kHz）を照射し

たところ、非常に高確率でⅡ形の結晶化が誘起されることが分かった。これは超音波照射によって生じるキャビテーションバブルによってもたらされる効果であり、特にバブルの帯電性等の界面状態がⅡ形の結晶化に作用していると考えられる。

・超音波照射により得られたⅡ形結晶の溶液中における安定性を調べたところ、溶液中で長期間（室温で少なくとも 5 日間）にわたって安定に存在できることが分かった。このことは、超音波照射によりⅠ形結晶が混じることなく選択的にⅡ形が結晶化していることを示唆している。

・アセトアミノフェン過飽和水溶液（$\sigma_{II} = 3.3$）に超音波照射することで得られたⅡ形結晶を粉末状にして経時安定性を評価したところ、加速試験条件下において 1 週間以内にⅠ形へ転移すること確認した。これはⅡ形結晶内部に含まれる欠陥領域及び粉砕工程が原因であると考えられる。

・アセトアミノフェン過飽和水溶液中にプラスチック球を入れて超音波照射することにより、Ⅱ形結晶化確率が向上し、かつ induction time のバラつきの低減及び induction time の短縮にも有効であることが分かった。この理由として、一つ目に球表面上に気体がトラップされており結果として容器内で発生するキャビテーションが増大したことが挙げられ、二つ目にプラスチック球を入れていない場合と比べて、超音波照射前に結晶化しやすい溶液状態になっていたためであると考えられる。

・小容量条件（0.8 ml）では超音波照射（45 kHz）により 100%の確率でⅡ形を結晶化させることができたが、大容量条件（15 ml）にすると結晶化確率は 14%まで低減し、また結晶化したのはⅠ形とⅡ形が混じったものであった。これは容器及び溶液量の変更に伴い、伝搬する超音波条件が変化したためであると考えられる。一方で、大容量条件（15 ml）にプラスチック球を入れて超音波照射することで、結晶化確率は 100%まで向上し、Ⅱ形も 83%という高確率で結晶化した。

第 4 章では、バルク状ポリマー界面を用いてアセトアミノフェン三水和物を結晶化制御することに成功した。その結果得られた知見を以下にまとめる。

・主成分がアクリル変成シリコーンポリマーである接着剤を固化させたものをバルク状ポリマーとして利用することで、三水和物の結晶化が誘起できることを見出した。三水和物の核発生及び成長の様子をその場観察した結果、三水和物はポリマー界面付近から核発生していることを確認した。よって、ポリマー表面とアセトアミノフェン分子が相互作用し、その結果として三水和物が結晶化するのに有利な配向になったためであると考えられる。

・得られた三水和物結晶は大気中で非常に不安定であり、すぐにⅠ形もしくはⅡ形へ転移することが分かった。一方で、これまで三水和物結晶は 5°C より高温の溶液中において安定に存在できず、Ⅰ形に転移してしまうと報告されていたが、ポリマーを用いて得られた三水和物結晶は温度に関わらず溶液中で安定に存在できることを明らかにした。この理由として、本技術によりⅠ形結晶が混じることなく選択的に三水和物が結晶化しているためであると考えられる。

・三水和物を溶液中で安定に存在させることが可能になったことから、本研究において三水和物の溶解度曲線の作成が初めて実現した。10-30°C の温度領域では、Ⅰ形＜Ⅱ形＜三水和物の順で溶解度が高くなることが分かった。さらに三水和物とⅠ形及びⅡ形との溶解度差は温度が増加するにつれて大きくなることが明らかとなった。またⅠ形と三水和物は 0-5°C において溶解度曲線が交差することが示唆された。

第 5 章では、溶液媒介相転移を用いてアセトアミノフェンⅡ形を結晶化制御することに取り組んだ。その結果得られた知見を以下にまとめる。
・三水和物結晶を含む飽和水溶液（1.7ml）にⅡ形結晶を添加することで、Ⅱ形と三水和物を溶液中で意図的に共存させたところ、三水和物の溶解及びⅡ形の成長が徐々に進み、最終的に溶液中の結晶は全てⅡ形になることが確認された。さらに本手法は大容量化も原理的に可能であり、三水和物結晶を含む飽和水溶液量を 15 ml に増やした条件においても、溶液媒介相転移によりⅡ形結晶を育成することに成功した。

・溶液媒介相転移により得られたⅡ形結晶の経時安定性を評価したところ、超音波照射により得られたⅡ形結晶と比べて経時安定性に優れることが明らかとなった。この理由として、より低速でⅡ形結晶を育成したことにより結晶中に含まれる欠陥領域が低減したためであると考えられる。

・溶液媒介相転移により育成したⅡ形結晶の一部に欠陥領域が含まれていたとしても、溶解及び再成長を行うことにより、欠陥領域を低減したⅡ形結晶の育成が可能であることを明らかにした。

6.3　将来の展望

本研究では、解熱鎮痛薬アセトアミノフェン準安定形（Ⅱ形）の結晶化制御及び安定性向上に取り組んだ。その結果、アセトアミノフェン過飽和水溶液へ超音波照射することでⅡ形を結晶化制御できることを見出した。さらに、アセトアミノフェン過飽和水溶液中にプラスチック球を入れて超音波照射することにより、Ⅱ形結晶化確率が向上し、かつ induction time のバラつきの低減及び induction time の短縮にも有効であることが分かった。一方で、プラスチック球の数（表面積）の効果や添加するプラスチックの形状（球状、シート状など）の詳細な影響までは調査できておらず、より効果的なプラスチックの添加方法が存在すると考えられる。さらにプラスチック球の効果は、溶媒が水の場合でのみ得られており、溶媒が有機溶媒の場合、induction time の短縮等の効果は得られていない（プラスチック球の材質は有機溶媒に溶けないテフロン等を使用している）。これは水に比べて有機溶媒は表面張力が低いので、プラスチック球表面に割れ目などがあったとしても容易に濡れてしまい、気体がトラップされなかった結果として、超音波の効果（キャビテーション）が増大されなかったためであると考えられる。近年開発される薬の多くは難水溶性の材料であることから、医薬品開発段階で使用されるのは有機溶媒であることも多いので、有機溶媒においても適用可能な技術にする必要がある。これは、プラスチック球の表面形状や濡れにくい素材でコーティングするなどの工夫により克服できると考えている。また三水和物からⅡ形への溶液媒介相転移を引き起こすことでⅡ形結晶を育成することに成功し、また経時安定性を向上させることに成功した。一方でⅡ形の経時安定性はサンプルによってかなりばらつきがあった。これは溶液媒介相転移を引き起こすために添加するⅡ形結晶の品質を制御できていないためであると考えられる。これらをより精密に制御することで、より経時安定性に優れたⅡ形育成の育成も期待できる。今後は本研究で得られた知見を他の薬剤に展開していき、どこまで汎用性のある技術になるか検証する必要がある。

上記のような課題が残っているものの、本研究は準安定形結晶の製剤化に向けて、アセトアミノフェンの準安定形結晶化制御を実現し、安定性向上にも有効である手法を示すことができた。著者は本研究成果にとどまることなく、結晶がもつ可能性を追求し精力的に研究を進め、社会貢献できるように精進していく所存である。有機低分子化合物の準安定形結晶化制御技術が創薬分野の進歩を加速させ、世界中の病気に苦しむ人々に貢献できる日が来ることを信じて、本論文の結びとしたい。

謝辞

本研究は大阪大学大学院工学研究科電気電子情報工学専攻において行われたものであります。ご指導及びご鞭撻を賜りました森勇介教授に心より感謝の意を表すると共に深く御礼の言葉を申し上げます。

本論文の作成にあたり、直接のご指導、ご助言を賜りました吉村政志教授（レーザーエネルギー学研究センター）、尾﨑雅則教授に感謝致します。

大学在学中にご指導とご高配を賜りました伊藤利道教授、片山光浩教授、栖原敏明名誉教授、片山竜二教授、近藤正彦教授、大森裕名誉教授、森伸也教授、八木哲也教授、斗内政吉教授、宮永憲明教授、西村博明教授ほか諸先生方に御礼申し上げます。

本研究の遂行におきまして、適時適切なご指導および御助言を頂いた、今出完准教授、今西正幸助教、安達宏昭招聘教授（株式会社創晶）、塚本勝男招聘教授、佐々木孝友名誉教授に感謝の意を表します。

丸山美帆子特任助教（現京都府立大学）には研究生活での直接のご指導を頂きました。結晶成長に関する基礎知識や論文の執筆方法など丁寧にご指導くださり、大変お世話になりました。ここに感謝の意を表します。

本研究を遂行するにあたり、多大なご助言、ご協力をいただきました、井上豪教授（大阪大学　応用化学専攻）、松村浩由教授（立命館大学）、村上聡教授（東京工業大学）、高野和文教授（京都府立大学）、吉川洋史准教授（埼玉大学）に深く感謝いたします。

本研究の実験を遂行するにあたり、多大なご助力を頂きました、高橋義典博士（特任研究員）、金久展子博士、杉山成博士、岡田詩乃氏に深く感謝いたします。

本研究を遂行するにあたり、有機・多形グループとして共に研究を行い、公私共にお世話になりました榮理奈氏（現凸版印刷株式会社）、山岸希氏（現シャープ株式会社）、西村健氏（現 NTT コミュニケーションズ株式会社）、山田利彦氏（現株式会社ジェイテクト）、山中梨紗子氏（現株式会社ダイヘン）、池田憲治氏（現ソニー株式会社）、福喜多俊氏（現川崎重工業株式会社）、藤原慎氏、山形眞氏、仁井滉允氏、藤本吏輝氏、釣優香氏に深く感謝いたします。

本研究を遂行するにあたり、御助力を頂きました、根岸和政氏（株式会社創晶慶心）、新家寛正氏（現千葉大学）、糸井真梨子氏、倉澤香澄氏、高澤秀生氏、村上航介氏、今林弘毅氏、北本啓氏、轟夕摩氏、松尾大輔氏、升本恵子氏（現産業技術総合研究所）、卜淵氏（現株式会社日立製作所）、本城正智氏、呂志明氏、曲晨氏（現ギガフォトン株式会社）、倉田将輝氏（現浜松ホトニクス）、小西悠介氏（現株式会社神戸製鋼所）、隅智亮氏（現パナソニック株式会社）、中川雄介氏（現住友化学株式会社）、福島勇児氏（現四国電力株式会社）、藤森拓氏（現豊田合成株式会社）、張凱氏、青木裕介氏（現東京エレクトロン株式会社）、石川彰人氏（現日立建機株式会社）、染野辰也氏（現三菱重工株式会社）、滝野淳一氏（現パナソニック株式会社）、原田陽司氏（現東日本電信電話株式会社）、森谷崇史氏（現関西電力株式会社）、伊賀仁志氏（現豊田合成株式会社）、高千穂慧氏（現株式会社デンソー）、中山智詞氏（現ソニー株式会社）、中村亘志氏（現パナソニック株式会社）、重田真実氏（現京セラ株式会社）、瀧沢友啓氏（現大日本印刷株式会社）、林佑紀氏（現本田技研工業株式会社）、増田一稀氏（現トヨタ自動車株式会社）、小川翔梧氏（現ローム株式会社）、佐藤太郎氏（現株式会社三井住友銀行）、高津啓彰氏（現アーサー・ディ・リトル・ジャパン株式会社）、遠竹悠氏（現株式会社リクルートホールディングス）、冨永勇佑氏（現パナソニック株式会社）、大驛悠一氏、谷山雄紀氏、山田拓海氏、上田健太郎氏、蔵本流星氏、四方啓太氏、林正俊氏、矢野雄大氏、山口陽平氏、金度勲氏、郡司祥和氏、澤田友貴氏、武田直樹氏、福原泰史氏、遠藤清人氏に感謝を申し上げます。

本研究の遂行に際し、ご協力頂きました秘書の片岡さおり氏、岡本幸子氏、石井由利江氏、久保由美氏、大月怜子氏、研究員の日野桂子氏をはじめ機能性材料創製領域諸氏に感謝します。

本研究は、ここに挙げきれなかった多くの方々のご指導、ご助言、ご協力があって達成されたものであり、心から御礼申し上げます。

最後に 9 年にわたる学生生活の間、生活面・精神面で支えてくれた両親、姉、弟、祖父母に心より感謝し、謝辞の結びとする。

2017 年 1 月

森　陽一朗

研究業績リスト

学術論文（筆頭）3件、（共著）1件

1) Yoichiro Mori, Mihoko Maruyama, Yoshinori Takahashi, Kenji Ikeda, Suguru Fukukita, Hiroshi Y. Yoshikawa, Shino Okada, Hiroaki Adachi, Shigeru Sugiyama, Kazufumi Takano, Satoshi Murakami, Hiroyoshi Matsumura, Tsuyoshi Inoue, Masashi Yoshimura, and Yusuke Mori, "Selective crystallization of metastable phase of acetaminophen by ultrasonic irradiation," Applied Physics Express **8** (2015) 065501-1-4.

2) Yoichiro Mori, Mihoko Maruyama, Yoshinori Takahashi, Hiroshi Y. Yoshikawa, Shino Okada, Hiroaki Adachi, Shigeru Sugiyama, Kazufumi Takano, Satoshi Murakami, Hiroyoshi Matsumura, Tsuyoshi Inoue, Masashi Yoshimura, and Yusuke Mori, "Metastable crystal growth of acetaminophen using solution-mediated phase transformation," Applied Physics Express **10** (2017) 015501-1-4.

3) Yoichiro Mori, Mihoko Maruyama, Yoshinori Takahashi, Hiroshi Y. Yoshikawa, Shino Okada, Hiroaki Adachi, Shigeru Sugiyama, Kazufumi Takano, Satoshi Murakami, Hiroyoshi Matsumura, Tsuyoshi Inoue, Masashi Yoshimura, and Yusuke Mori, "Crystallization of acetaminophen form II by plastic-ball-assisted ultrasonic irradiation," Applied Physics Express **10** (2017) 025501-1-4.

4) Kenji Ikeda, Mihoko Maruyama, Yoshinori Takahashi, Yoichiro Mori, Hiroshi Y. Yoshikawa, Shino Okada, Hiroaki Adachi, Shigeru Sugiyama, Kazufumi Takano, Satoshi Murakami, Hiroyoshi Matsumura, Tsuyoshi Inoue, Masashi Yoshimura, and Yusuke Mori, "Selective crystallization of the metastable phase of indomethacin at the interface of liquid/air bubble induced by femtosecond laser irradiation," Applied Physics Express **8** (2015) 045501-1-4.

国際会議発表（著者登壇分）3 件

1) Yoichiro Mori, Yoshinori Takahashi, Kenji Ikeda, Toshihiko Yamada, Ken Nishimura, Mihoko Maruyama, Hiroshi Y. Yoshikawa, Shino Okada, Hiroaki Adachi, Shigeru Sugiyama, Hiroyoshi Matsumura, Kazufumi Takano, Tsuyoshi Inoue, Satoshi Murakami, Masashi Yoshimura, and Yusuke Mori, "Polymorphism control of pharmaceutical compound acetaminophen by ultrasonic irradiation," 17th International Conference on Crystal Growth and Epitaxy, August, 2013, Warsaw, Poland, oral presentation.

2) Yoichiro Mori, Mihoko Maruyama, Yoshinori Takahashi, Hiroshi Y. Yoshikawa, Shino Okada, Hiroaki Adachi, Shigeru Sugiyama, Kazufumi Takano, Satoshi Murakami, Hiroyoshi Matsumura, Tsuyoshi Inoue, Masashi Yoshimura, and Yusuke Mori, "Selective crystallization of acetaminophen polymorph with high solubility," 20th American Conference on Crystal Growth and Epitaxy, August, 2015, Montana, USA, oral presentation.

3) Yoichiro Mori, Mihoko Maruyama, Yoshinori Takahashi, Hiroshi Y. Yoshikawa, Shino Okada, Hiroaki Adachi, Shigeru Sugiyama, Kazufumi Takano, Satoshi Murakami, Hiroyoshi Matsumura, Tsuyoshi Inoue, Katsuo Tsukamoto, Masashi Yoshimura, and Yusuke Mori, "Growth of acetaminophen form II by using solvent-mediated phase transformation," 18th International Conference on Crystal Growth and Epitaxy, August, 2016, Nagoya, Japan, oral presentation.

国内会議発表（著者登壇分）8 件

1) 森陽一朗、山中梨紗子、西村健、高橋義典、岡田詩乃、丸山美帆子、安達宏昭、吉村政志、森勇介、「溶液状態制御によるパラセタモール結晶多形の制御」、日本薬剤学会第 27 年会、 2012 年 5 月、兵庫、口頭発表

2) 森陽一朗、池田憲治、山中梨紗子、山田利彦、西村健、高橋義典、丸山美帆子、吉川洋史、岡田詩乃、安達宏昭、杉山成、松村浩由、高野和文、井上豪、村上聡、吉村政志、森勇介、「溶液状態制御による医薬化合物パラセタモールの結晶多形制御」、第 42 回結晶成長国内会議、2012 年 11 月、福岡、口頭発表

3) 森陽一朗、池田憲治、山田利彦、西村健、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

波印加によるアセトアミノフェンの結晶多形制御」、日本薬学会第 133 年会、2013 年 3 月、神奈川、口頭発表

4) 森陽一朗、池田憲治、山田利彦、西村健、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、「超音波印加によるアセトアミノフェン、インドメタシンの結晶多形制御」、日本薬剤学会第 28 年会、2013 年 5 月、愛知、口頭発表

5) 森陽一朗、福喜多俊、池田憲治、山田利彦、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、「超音波印加による医薬化合物アセトアミノフェンの準安定相晶出」、第 43 回結晶成長国内会議、2013 年 11 月、長野、口頭発表

6) 森陽一朗、池田憲治、山田利彦、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、「超音波による医薬化合物アセトアミノフェンの結晶多形制御」、日本薬剤学会第 29 年会、2014 年 5 月、埼玉、ポスター発表

7) 森陽一朗、高橋義典、丸山美帆子、池田憲治、福喜多俊、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、「高溶解性アセトアミノフェン結晶多形の選択晶出」、日本薬学会第 135 年会、2015 年 3 月、兵庫、口頭発表

8) 森陽一朗、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 年 5 月、岐阜、口頭発表

その他発表　2 件

1) 森陽一朗、山田利彦、池田憲治、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、「超音波印加による医薬化合物の準安定相晶出」、第 37 回結晶成長討論会、2013 年 9 月、長野、ポスター発表

2) 森陽一朗、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 年 9 月、滋賀、ポスター発表

受賞リスト　3 件

1)　森陽一朗、中山智詞、山田利彦、"内視鏡医療の新しいカタチ"　レーザーを用いた「新・ドラッグデリバリーシステム」、第 14 回キャンパスベンチャーグランプリ大阪大会テクノロジー部門最優秀賞、2012 年 12 月

2)　森陽一朗、中山智詞、山田利彦、"内視鏡医療の新しいカタチ"　レーザーを用いた「新・ドラッグデリバリーシステム」、第 9 回キャンパスベンチャーグランプリ全国大会審査委員会特別賞、2013 年 3 月

3)　森陽一朗、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、若手ポスター賞、2015 年 9 月、滋賀