

医薬化合物の大容量準安定形結晶化

大阪大学大学院工学研究科

電気電子情報工学専攻 電子工学コース

藤本 吏輝

1. 序言

炭素 (C) には黒鉛とダイヤモンドのように、同じ分子式でも結晶状態の分子の並び方が異なり、物性が異なる状態が存在する。これを結晶多形と呼び、食品や半導体などの様々な分野において研究の対象とされている。結晶多形は医薬品の原薬候補となる化合物にも多く存在し、溶解性、溶出速度、製剤特性、安定性など、多くの性質を決める要素となっているため、結晶多形を制御することは非常に重要なテーマとなっている¹⁻⁶⁾。また結晶多形を制御し、化合物の構造を変えることによって特許侵害の回避も可能となるため⁷⁻⁸⁾、後発医薬品 (ジェネリック) の開発を促進することも可能となる。安定形や準安定形などの結晶多形の中でも、保存の観点から最も溶けにくい安定形が一般的に医薬品として採用される。しかし、近年の新薬候補化合物の多くは難水溶性であり、溶けにくい安定形が薬効を発揮するためには服用量を増やす必要がある。これは副作用のリスクに直結するため、開発を断念する化合物が増えている。よって、安定形より溶けやすい準安定形の製剤化が新薬開発のために重要となっている。

医薬化合物の結晶多形を制御する技術を開発するに当たり、現在我々は解熱鎮痛薬アセトアミノフェンをモデル薬物として使用している。アセトアミノフェンには安定形である I 形、準安定形である II 形、水和物である三水和物など、様々な結晶多形が存在するが⁹⁻¹⁴⁾、近年、準安定形である II 形は超音波照射や複雑な他段階冷却により結晶化が可能となった¹⁵⁻¹⁶⁾。一方、上記手法で得られる結晶の品質が悪く、結晶内部に欠陥領域 (成長不良や不純物の取り込み) が存在することにより、II 形が I 形へと容易に変化してしまうことが大きな問題となっていた¹⁶⁾。加えて得られる II 形結晶の収量も非常に限定されているのが実情であり、実用化に必要な工業スケール (1 L)¹⁷⁾での作製は未だ達成されていない。以上の理由から、準安定形を用いた高機能新薬の実現が非常に困難なものとなっている。

本研究では、高品質かつ大容量のアセトアミノフェン II 形 (準安定形) を作製するために、溶液媒介相転移という現象に着目した。溶液媒介相転移とは、溶液中に複数の結晶多形が存在した場合に、不安定な結晶形が栄養として溶解し、安定な結晶形が成長する現象のことである¹⁸⁾。本実験では、不安定な結晶形である三水和物に意図的に相転移を誘起することで、結晶欠陥が大幅に減少し

た高品質 II 形結晶の作製に成功した。また新規の結晶化法として溶液攪拌技術を開発し、三水和物結晶をリットルオーダーという大容量条件で作製することに成功した。上記の溶液媒介相転移と溶液攪拌法の組み合わせにより、高品質な準安定形を工業的に作製することが初めて可能となった。

2. 実験

まず初めに溶液媒介相転移の実験手順を以下に示す。アセトアミノフェン I 形 (再結晶化原料) を超純水に加え、濃度 40 mg/mL の溶液を調製した。60°C で 3 h 溶解し、濾過 (粒子保持能 0.2 μm) した後に、1.7 mL の溶液を 19 mL バイアル瓶に分注した。この時、バルク状に成形したアクリルシリコンポリマーを溶液へ添加しておき、0°C まで冷却・過飽和状態にすることで、三水和物の結晶を行った¹⁸⁾。三水和物結晶を含む飽和溶液を、II 形と三水和物の溶解度差が比較的大きい 5、10、20°C まで昇温し、超音波照射によって得られた II 形種結晶を含む飽和水溶液 (20–80 μL、II 形結晶の個数: 10–50) をここへ滴下した。以上のプロセスにより、溶液媒介相転移を通した II 形結晶の成長を行った。得られた II 形結晶の安定性は粉末 X 線回折により測定した。粉末にした II 形結晶を高温多湿 (40 ± 2°C、80 ± 5% RH) の加速試験環境に置き、I 形への変化を促進した。このサンプルに X 線を照射し、24° 及び 26.5° 付近に存在する II 形と I 形特有のピーク強度 P_{II} 、 P_I から相対強度比 $P_{II}/(P_{II}+P_I)$ を算出、これを経時的に観察することで II 形の安定性を評価した。

次に、溶液攪拌法による三水和物の大容量作製の実験手順を示す。過飽和溶液は上記と同様の手順により準備



図1 溶液媒介相転移によるII形結晶成長のセットアップ模式図

し、ガラス製の攪拌球が添加してある19mLバイアル瓶に2 mL溶液を分注した。0℃まで冷却し、過飽和状態にした後、図に示すロータリーシェイカーによって揺動することで、ガラス球による溶液の攪拌を実施した。また本手法を大容量条件である1 L溶液にも適用することで三水和物を作製した後、上記の溶液媒介相転移を併用することで、II形についても大容量作製を行った¹⁹⁾。

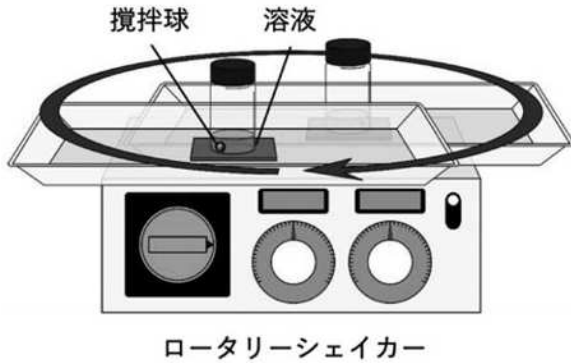


図2 溶液攪拌法による三水和物結晶化のセットアップ模式図

3. 結果と考察

溶液媒介相転移によるII形結晶成長の様子を図に示す。三水和物が溶解することでII形が成長し、最終的にII形のみが得られた。

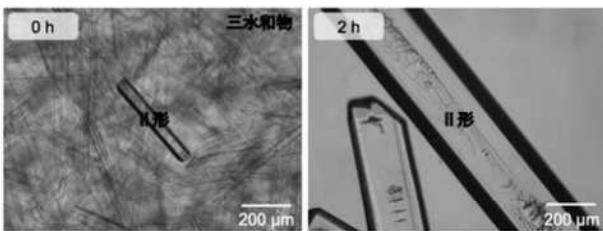


図3 三水和物からの溶液媒介相転移を介したII形結晶成長の様子

20℃条件では4h、10℃条件では2週間程度で相転移が完了した。一方、5℃では相転移が進行せず、3ヶ月経過もII形が成長した様子は観察されなかった。これはII形結晶の成長駆動力となるII形と三水和物間の溶解度差が非常に小さかったためであると考えられる。10℃条件では結晶が長軸方向(c軸方向)に平均で2.6 μm/hと20℃条件での速度の1-10%程度と低速で成長していることが分かり、不透明領域として現れる結晶欠陥が減少していることが観察された。各温度条件の結晶約150個に対して、結晶欠陥が少しでも存在するものと全く存在しないもの

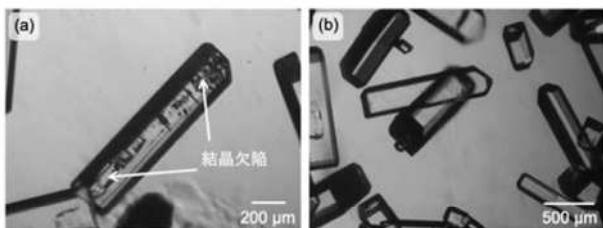


図4 (a)20℃と(b)10℃における溶液媒介相転移によって得られたII形結晶

に選別し、欠陥を持つ結晶割合を調査したところ、10℃条件での割合が20℃条件の1/3程度(～12%)に抑制されており、高品質結晶が得られていると確認された。

上で述べたように、高温の20℃条件では溶液の過飽和度が高く、高速で結晶が成長する。この時、結晶表面での過飽和度は中心ほど低く、縁の方が高いということが知られている(Berg効果²⁰⁾)。これにより、20℃条件では縁が優先的に成長、中心が成長遅延することで溶液取り込みが発生したと考えられる。一方で10℃条件では溶液過飽和度が低いため、上記効果が小さく、高品質結晶が得られたと考えられる。次にII形の安定性を評価した結果を図に示す。溶液媒介相転移を用いたII形の低過飽和成長を実施することで、結晶欠陥が減少し、安定性が飛躍的に改善されることが明らかとなった。相対強度比が0.9に減少するまでの時間を比較したところ、10℃条件で得られたII形結晶は超音波照射で得られたものの90倍以上も安定であることが分かった。

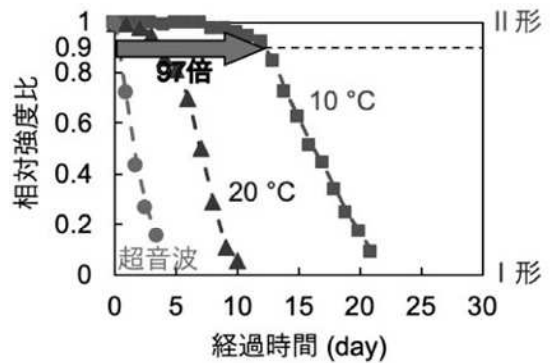


図5 各手法(超音波照射、10、20℃条件における溶液媒介相転移)により得られたII形結晶の安定性評価

次に、溶液攪拌法による三水和物の結晶化実験の結果について述べる。図に示すように、過飽和溶液をガラス球により攪拌することで、結晶化が誘起される様子が観察された。得られた結晶の多形判別をラマン分光法により行った結果、三水和物が得られていると分かった。また本手法で得られた三水和物結晶は、20℃に1週間静置も溶液中で安定に存在していたため、選択的に得られていることが分かった。

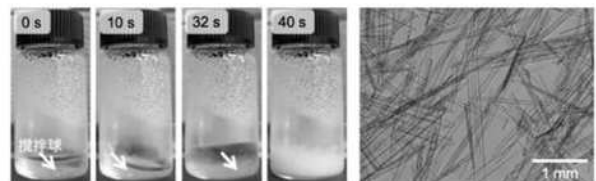


図6 溶液攪拌法による三水和物結晶化の様子と得られた結晶の写真

本手法を1 L溶液に実施したところ、大容量かつ選択的に三水和物を結晶化することに初めて成功した。先行研究において、攪拌によって溶液中に発生する乱流が結晶化を誘起することが報告されている²¹⁾が、本手法においても使用した攪拌球が乱流を効率的に発生させることで

結晶化が起こったと考えられる。加えてアセトアミノフェン三水和物はⅠ形やⅡ形に比べ溶解度が高い。一般に溶液が十分に過飽和状態にあるとき、表面エネルギーが小さい多形が優先的に結晶化することが知られている（オストワルドの段階則²²⁾）。本手法で三水和物が結晶化の際、大量に核発生が起こるために過飽和度が急激に減少し、その他の多形が核発生しなかったため、三水和物が選択的に得られたと考えられる。最後に大容量三水和物結晶から溶液媒介相転移を介したⅡ形作製の結果を示す。10℃条件で溶液媒介相転移を実施した結果、図7に示すような高品質Ⅱ形結晶を大容量で作製することに初めて成功した。得られたⅡ形の質量はおおよそ24900mgと超音波照射法の1000倍以上の結晶が一度に得られていると分かった。

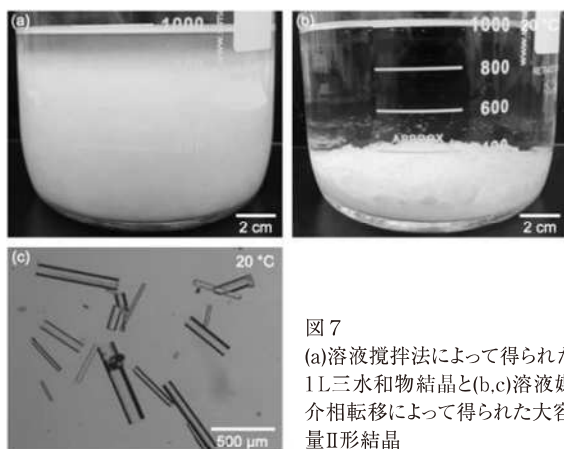


図7
(a)溶液攪拌法によって得られた1L三水和物結晶と(b,c)溶液媒介相転移によって得られた大容量Ⅱ形結晶

4. 結言

本研究では結晶多形制御技術の開発を目的に、解熱鎮痛薬のアセトアミノフェンをモデル物質として、準安定形であるⅡ形の結晶化に取り組んだ。溶液媒介相転移を介して三水和物からⅡ形を成長させることで、低過飽和条件での結晶成長が可能となり、溶液取り込み等の結晶欠陥を大幅に減少させることに成功した。これにより、問題となっていたⅡ形の安定性が飛躍的に向上した。また新規結晶化技術である溶液攪拌法を開発することで、三水和物の大容量（1L）結晶化に成功した。上記溶液媒介相転移と溶液攪拌法を併用することで、高品質Ⅱ形結晶の大容量作製に初めて成功した。

本研究で得られた知見が、創薬分野の進歩を加速させて医薬業界へ貢献すること、また医薬のみならず結晶多形制御が必要な多くの分野に貢献することを期待して結びとしたい。

5. 謝辞

本研究を遂行するにあたり、ご指導を賜りました大阪大学大学院工学研究科電気電子情報工学専攻機能性材料創製領域の森勇介教授に深く感謝致します。終始ご指導及びご助言を賜りました吉村政志教授、丸山美帆子特別研究員に御礼申し上げます。

参考文献

- 1) N. Blagden, M. de Matas, P. T. Gavan, and P. York, *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 59, 617 (2007).
- 2) S. N. Bhattachar, L. A. Deschenes, and J. A. Wesley, *Drug Discov. Today* 11, 1012 (2006).
- 3) P. Di Martino, A.-M. Guyot-Hermann, P. Conflant, M. Drache, and J.-C. Guyot, *Int. J. Pharm.* 128, 1 (1996).
- 4) Y.-T. Sohn, *J. Pharm. Investig.* 20, 97 (1990).
- 5) A. M. Thayer, *Chem. Eng. News* 85, 17 (2007).
- 6) H. Gupta, S. Kumar, S. Roy, and R. Gaud, *J. Pharm. Bioallied Sci.* 2, 2 (2010).
- 7) A. M. Thayer, *Chem. Eng. News* 85, 17 (2007).
- 8) H. Gupta, S. Kumar, S. Roy, and R. Gaud, *J. Pharm. Bioallied Sci.* 2, 2 (2010).
- 9) D. A. Druzhbin, T. N. Drebushchak, V. S. Min'kov, and E. V. Boldyreva, *J. Struct. Chem.* 56, 317 (2015).
- 10) M. Haisa, S. Kashino, R. Kawai, and H. Maeda, *Acta Crystallogr., Sect. B* 32, 1283 (1976).
- 11) G. Nichols and C. S. Frampton, *J. Pharm. Sci.* 87, 648 (1998).
- 12) M. Haisa, S. Kashino, and H. Maeda, *Acta Crystallogr., Sect. B* 30, 2510 (1974).
- 13) P. A. McGregor, D. R. Allan, S. Parsons, and C. R. Pulham, *J. Pharm. Sci.* 91, 1308 (2002).
- 14) M. L. Peterson, D. McIlroy, P. Shaw, J. P. Mustonen, M. Oliveira, and Ö. AlMarsson, *Cryst. Growth Des.* 3, 761 (2003).
- 15) 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, 065501 (2015).
- 16) M. A. Mikhailenko, *J. Cryst. Growth* 265, 616 (2004).
- 17) K. Tahara, M. O'Mahony, and A. S. Myerson, *Cryst. Growth Des.* 15, 5149 (2015).
- 18) Y. Mori, M. Maruyama, Y. Takahashi, H. Y. Yoshikawa, S. Okada, H. Adachi, S. Sugiyama, K. Takano, S. Murakami, H. Matsumura, T. Inoue, M. Yoshimura, and Y. Mori, *Appl. Phys. Express* 10, 015501 (2017).
- 19) R. Fujimoto, M. Maruyama, S. Okada, H. Adachi, H. Y. Yoshikawa, K. Takano, M. Imanishi, K. Tsukamoto, M. Yoshimura, and Y. Mori, *Appl. Phys. Express* 12, 045503 (2019).
- 20) W. F. Berg, *Proc. Roy. Soc. A Math. Phys. Eng. Sci.* 164, 79 (1938).
- 21) L. Shmidt, and J. Shmidt, *Chem. Eng. Comm.* 36, 233 (1985).
- 22) W. Ostwald, *Z. Phys. Chem.* 22, 289 (1879).

(電子情報 平成29年卒 電気電子情報 平成31年前期)



大阪大学大学院 工学研究科
電気電子情報工学専攻
電子工学コース
機能性材料創製領域
森研究室

勤務先：オリンパス株式会社
医療用内視鏡に関する研究開発に
従事