

2次核発生の促進および抑制効果を利用した
医薬品原薬の結晶粒度制御

平成 28 年 3 月

高須賀 正博

2次核発生の促進および抑制効果を利用した
医薬品原薬の結晶粒度制御

平成 28 年 3 月

大阪市立大学大学院

工学研究科

たかすが まさひろ

高須賀 正博

目次

第1章 緒論.....	1
1.1 医薬品原薬と粒子径.....	2
1.2 粉碎操作による粒度制御.....	5
1.3 晶析操作による粒度制御.....	6
1.4 本研究の目的と各章の概要.....	10
使用記号と単位.....	12
引用文献.....	13
第2章 高せん断攪拌機を用いた2次核発生の促進による結晶粒度制御.....	15
2.1.1 緒言.....	16
2.1.2 2次核発生速度.....	17
2.2 実験.....	18
2.2.1 原料.....	18
2.2.2 溶解度測定.....	18
2.2.3 粉碎実験.....	18
2.2.4 回分晶析実験.....	20
2.2.5 半回分晶析実験.....	20
2.2.6 パイロット製造.....	21
2.3 結果と考察.....	24
2.3.1 粉碎による微粒子化.....	24
2.3.2 攪拌効率が粒子径に与える影響(回分晶析実験).....	25
2.3.3 供給流量比が粒子径に与える影響(半回分晶析実験).....	26
2.3.4 翼先端速度一定によるスケールアップ確認.....	31
2.4 結言.....	33
使用記号と単位.....	34

引用文献.....	35
第3章 オイルアウト晶析におけるオイル滴径による結晶粒度制御.....	37
3.1 緒言.....	38
3.2 実験.....	39
3.2.1 原料.....	39
3.2.2 溶解度と曇点測定.....	39
3.2.3 オイルアウト晶析実験.....	40
3.2.4 オイル滴径と結晶粒子径の測定.....	41
3.3 結果と考察.....	42
3.3.1 オイルアウト現象.....	42
3.3.2 相図.....	44
3.3.3 オイル相と連続相の組成.....	46
3.3.4 オイル滴径と結晶粒子径との関係.....	48
3.3.5 顕微鏡による核発生と結晶成長の観察.....	53
3.3.6 粗大及び微小結晶の生成機構.....	54
3.3.7 オイルアウト晶析における結晶の粒度制御.....	59
3.4 結言.....	60
引用文献.....	61
第4章 オイルアウト晶析における溶媒組成による結晶粒子径とアスペクト比の制御.....	64
4.1 緒言.....	65
4.2 実験.....	66
4.2.1 原料.....	66
4.2.2 溶解度と曇点測定.....	66
4.2.3 晶析実験.....	67
4.2.4 組成分析.....	67
4.2.5 結晶粒子径とアスペクト比の測定.....	67

4.2.6 結晶形の測定	68
4.3 結果と考察	68
4.3.1 相図	68
4.3.2 濃度追跡	70
4.3.3 オイルアウト晶析と単相晶析における結晶のアスペクト比の比較	72
4.3.4 結晶粒度分布	78
4.4 結言	80
引用文献	82
第5章 総括	84
発表論文	87
謝辞	88

第 1 章

緒論

1.1 医薬品原薬と粒子径

医薬品は、有効成分である原薬(API: Active Pharmaceutical Ingredient)と賦形剤、崩壊剤や滑沢剤等によって構成されており、原薬の品質は薬の有効性、安全性に直結するため、恒常的に高品質であることが求められる¹。近年、バイオフィーマシューティクス・クラシフィケーション・システム(Biopharmaceutics Classification System)²という薬物の分類において、化合物の溶解性が低いクラス 2と4の原薬が増えてきており、溶解性向上の必要性が高まってきている。溶解速度向上のための手段の一つとして化合物の微粒子化が挙げられる。式(1-1)はネルンスト・ノイエス・ホイットニーの式と呼ばれ、固体の溶解速度式を表している³⁴。

$$\frac{dC}{dt} = \frac{DS}{Vh}(C_s - C) \quad (1-1)$$

ここで、 C は時刻 t における濃度、 C_s は溶解度、 S は固体の表面積を示している。一般的に粒子径が小さくなると、重量当たりの固体の表面積が増大するため、式(1-1)より溶解速度は速くなることがわかる。つまり化合物の微粒子化により溶解速度を向上させることが可能であることを示している。

医薬品の開発においては、治験薬として製造している段階から市販後、あるいは先発医薬品と同等の薬効を示すように開発される後発医薬品(ジェネリック医薬品)においても、錠剤から放出された有効成分である原薬が溶解するまでの一連の溶出速度の同等性は厳格に管理されている⁵。すなわち、粒子径が溶出速度に影響しているため、医薬品として提供していく上で、粒子径を一定に保つように制御することが必須である。粒子径の違いによる溶出速度への影響についてはいくつかの報告がある⁶。Figure 1-1 に異なる粒子径に対する溶出プロファイルのイメージを示す。前述のように粒子径が小さいと溶出速度が向上するため短時間で溶出し、粒子径が大きくなるに従って緩やかな上昇となる。Figure 1-1 で示すいずれの粒子径の原

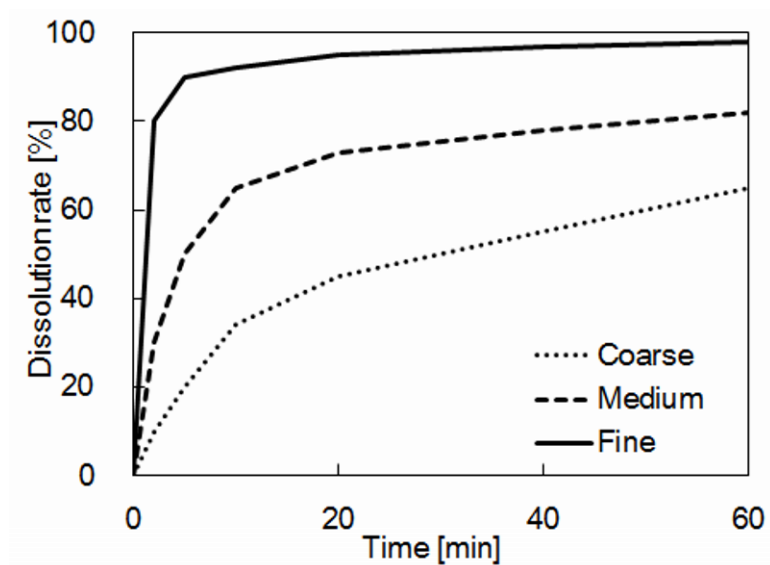


Figure 1-1. Dissolution rate profiles of API crystals embedded in a tablet with three different sizes, coarse, medium and fine.

薬を開発していくとしても、溶出プロファイルが同等となる範囲で粒子径を制御しなければならない。

Figure 1-2 は医薬品の製造工程の概略を示している。医薬品原薬の製造工程では主原料を化学合成し、いくつもの中間体化合物を経て目的の原薬化合物 (API) まで合成 (Step 1 → Step X) される。その際に、一つのステップにて反応、濃縮、晶析、ろ過、乾燥といったいくつもの単位操作を実施する。ステップ数が増えれば晶析工程の数も増えることになる。前述のように体内への吸収の観点から、最終原薬工程では微粒子化を行うことが多いが、それまでの中間体工程においては、むしろ粒子径の大きい結晶の方が、固液分離であるろ過操作において生産効率上好ましいことが多い。ろ過性の指標を表すケーキ比抵抗 (α) の式を(1-2)に示す⁷。ケーキ比抵抗の値が大きくなるとろ過速度は遅くなる。

$$\alpha = \frac{kS_0^2(1-\varepsilon)}{\rho\varepsilon^3} \quad (1-2)$$

ここで、 S_0 は単位体積あたりの粒子表面積を示しており、式(1-3)によって表される。

$$S_0 = \frac{6}{\psi D_p} \quad (1-3)$$

ここで、 ψ はカルマン (Carman) の形状係数と呼ばれ、球形粒子の場合は最大値の 1 となり、アスペクト比が大きいほど小さくなる。即ちアスペクト比が大きくなる針状結晶のような形状であれば S_0 の値が大きくなるため、ケーキ比抵抗が大きくなりろ過速度が遅くなる。また D_p は粒子径を示しており、粒子径が小さくなるにつれ、同様に S_0 の値が大きくなるためろ過速度が遅くなる。固液分離時の生産効率の観点からは、アスペクト比が小さく、かつ粒子径の大きな結晶が望ましく、そのような結晶を取得するための粒度制御もまた重要である。

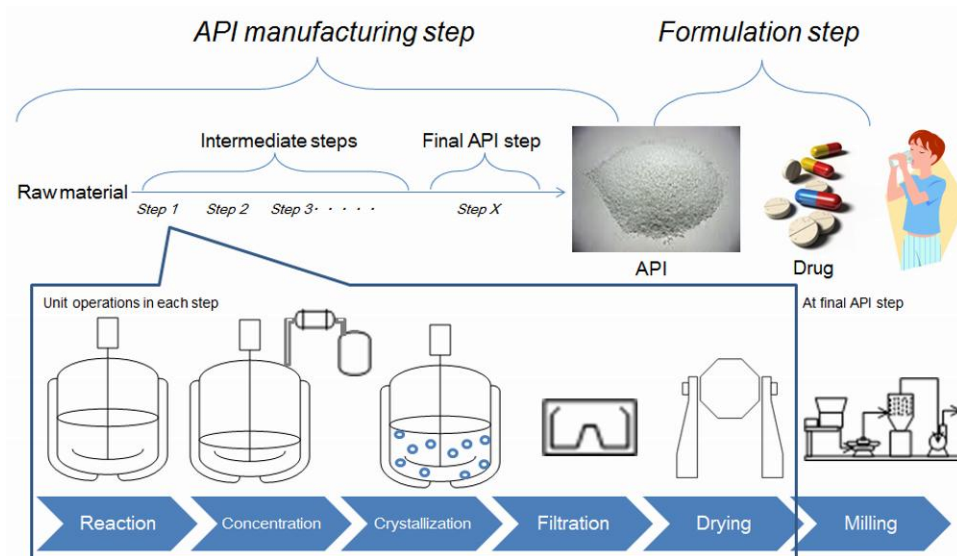


Figure 1-2. Drug manufacturing process including API manufacturing step and unit operations in each step.

1.2 粉碎操作による粒度制御

最終原薬工程で粉碎を行い、原薬の粒子径を制御することは通常よく用いられる方法である。粉碎操作には大きく分けて、乾式粉碎と湿式粉碎がある。医薬品製造において頻繁に用いられる乾式粉碎機としては、気流式粉碎機であるジェットミル、高速回転衝撃式粉碎機であるピンミルやハンマーミルなどが挙げられる⁸。これらの乾式粉碎機は、回転数や粉碎圧力を変えることで所望の粒子径へ制御することができる。近年、高薬理活性の原薬の開発が増えるに伴い、作業者の安全性を確保するために、製造機内における化合物の封じ込めが必要となってきた。乾燥結晶は湿潤結晶と比較し、飛散し暴露しやすいため、封じ込めの要求度合いが高い乾式の操作が増えることはデメリットの一つとして挙げられる。さらに原薬の熱安定性によっては融解の懸念が生じたり、原薬が水和物や溶媒和物である場合に、窒素気流下で行うことによる水分子、溶媒分子の脱離が起こることも懸念される。また連続運転において粉碎機内部の粉体固着による閉塞のため、洗浄の必要性が生じ、生産効率が低下するといった問題も頻繁に生じていることから、乾式粉碎以外の方法による粒度制御方法が望まれているのが現状である。

湿式粉碎機としては、媒体式粉碎機のビーズミル⁸があり、溶解性向上のためナノサイズまで原薬を粉碎する必要がある時に用いられる⁹。しかしながら、ナノサイズまで粉碎することで、固液分離や粉体のハンドリングが非常に悪くなることから、特殊な場合を除いてあまり用いられるてはいない。原薬晶析工程で、結晶の凝集がしばしば見受けられるが、その凝集結晶を解砕する目的で、高せん断攪拌機を導入している事例が紹介されている¹⁰。高せん断攪拌機は、原薬の粉碎としても活用が可能であり、いくつかの実施例が報告されているが^{11,12}、乾式粉碎のジェットミルほどは粉碎能力がないため、目的の粒子径が数マイクロメートルである場合にはあまり用いられていない。

1.3 晶析操作による粒度制御

Figure 1-2 に示すように、粉碎工程は最終原薬工程の乾燥後に一工程余分に実施する必要があるので、生産効率面からは好ましくない。そのため、晶析工程で原薬の粒子径を制御することができれば生産効率の観点からはメリットがある。粉碎操作を実施する場合においても、粉碎前の粒子径が異なると、粉碎条件を都度設定することになるため、工数削減の面からも晶析工程において粒子径を制御しておくことが好ましい。

医薬品原薬の晶析工程では原薬である有機化合物を溶解する溶媒、及び再結晶させるための貧溶媒を用いる貧溶媒晶析、あるいは高温で溶解させた後、冷却によって化合物を析出させる冷却晶析などがよく用いられる。晶析工程で得られる結晶の粒子径は核発生と結晶成長に依存する。厳密に言うと結晶成長は核発生後に起こるため、核発生を制御することが結晶の粒度制御に繋がると考えられる。核発生によって多量の核が発生すれば全体の個数が増え、結果的に得られる結晶の粒子径は小さくなる。反対に核発生が抑制されると、少数の核が成長することで大きな結晶が得られる。また核発生には結晶を含まない溶液から起こる 1 次核発生と結晶存在下において引き起こされる 2 次核発生とに分けられる¹³。化合物濃度が溶解度未満であると未飽和状態であるので結晶は析出しないが、溶解度を超えると過飽和状態となり核発生が起こりうる。この過飽和状態を示す指標として過飽和比が用いられる。過飽和比は核発生と結晶成長の両方の推進力となるため、粒度制御には非常に重要な役割を果たす。例えば、Figure 1-3 (a) において点 A における化合物濃度を C とし、同じく点 A における温度に対する溶解度を C* とすると過飽和比は C/C^* として表される¹³。つまり同じ化合物濃度において冷却すると過飽和比は高くなる。過飽和比が高くなると 1 次核化が起こりうるが、核が発生して結晶が出現したと認められた温度との関係をプロットしたものは過溶解度曲線と呼ばれる (Fig. 1-3)。過溶解度曲線は、冷却速度や攪拌速度など様々な要因により影響を受けることが知られている¹⁴。

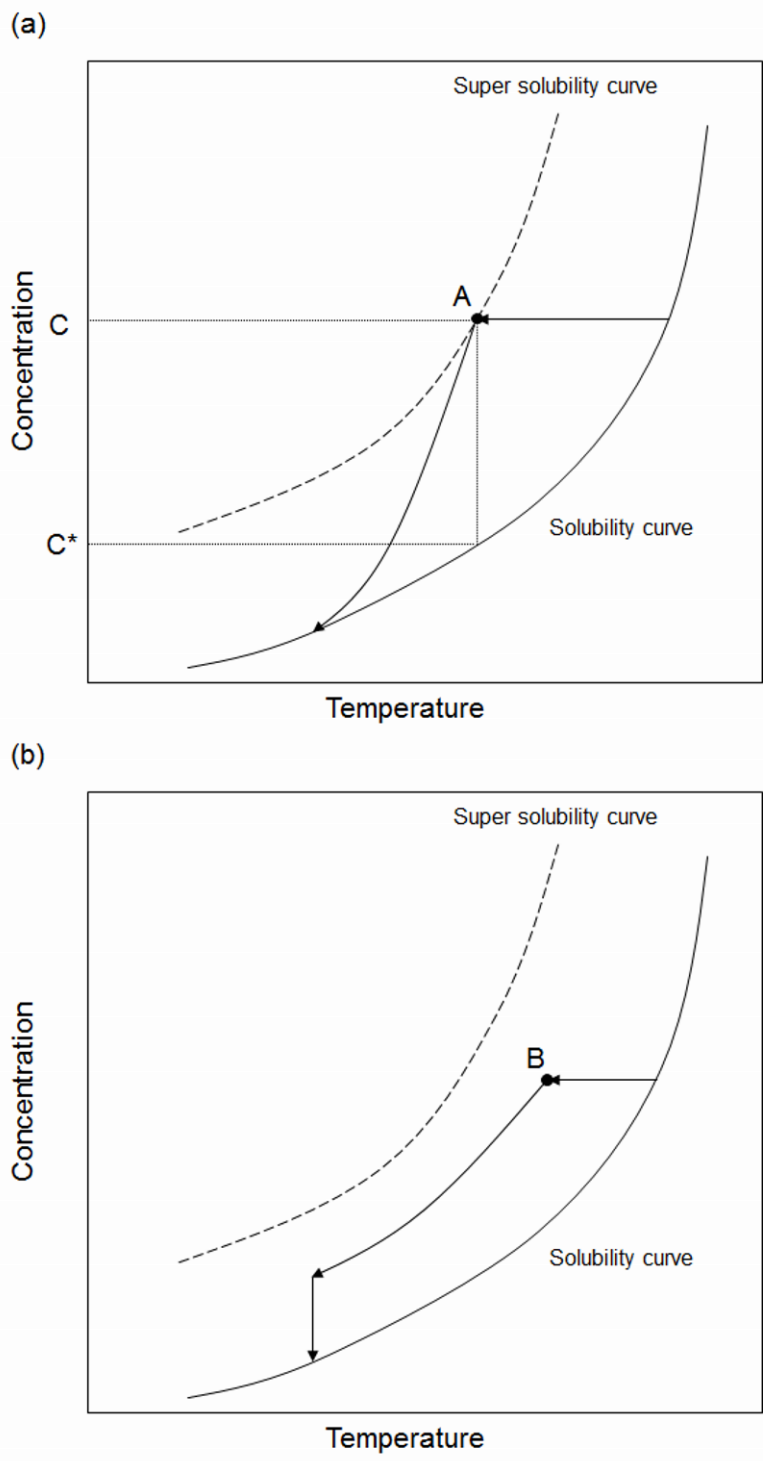


Figure 1–3. Two different concentration profiles during crystallization: (a) uncontrolled cooling without seed and (b) controlled cooling with seed. Filled circle A shows where primary nucleation occurs and filled circle B shows where seed crystals are added. C shows the concentration at A and C* shows the solubility at the temperature for A.

貧溶媒晶析、冷却晶析のどちらも結晶粒度制御に関する研究は数多くされてきており^{15,16}、過飽和比を制御することによって、得られる結晶の粒子径を制御する方法が一般的である¹⁶。Figure 1-3 に 2 つの異なる晶析中の溶液濃度推移を矢印で示す。Figure 1-3 (a)では濃度 C の溶液を冷却した時に、過溶解度曲線上にある A の温度にて核発生が起こっていることが確認される。その後、冷却するに従って結晶化が進行し、溶解度に向かって濃度は減少する。一方で Figure 1-3 (b)では過溶解度曲線まで到達していない状態 B で種晶を加えることで結晶化を行っている。過溶解度と溶解度の間の領域は準安定域として知られ、種晶を含めた結晶存在下においては結晶成長が起こることが知られている¹³。ただし、一旦結晶が出現した、あるいは種晶を添加した場合の過溶解度曲線の存在については不明であり、その物理的意味については明確に定義されていない。Figure 1-3 の 2 つの晶析操作に対する過飽和比変化を Figure 1-4 に示す。種晶を用いない自然冷却あるいは一定冷却速度を維持する、いわゆる非制御冷却による晶析 (Fig. 1-3 (a)) における過飽和比変化は、1 次核発生が起こる A まで上昇を続け、冷却終了後の溶解度に向けて減少するという変化をたどる。一方 Figure 1-3 (b)に示すように、種晶を添加して(自然核発生が起こりにくいと考えられている)準安定領域を C/C^* が一定値となるように冷却速度を制御しながら結晶を析出させようとする制御冷却晶析がある。この場合の過飽和比変化は Figure 1-4 の B を起点とする一定値で推移することになる。しかし、実際には過飽和比を一定にする制御を工業的操作で行うことは難しく、種晶を用いない非制御冷却による結晶化では、高過飽和比からの核発生により、結晶個数の増大と、得られる結晶の微粒子化が起こりやすい。種晶を用いた制御冷却による結晶化では核発生を抑制し、結晶成長により大きな結晶を得ることができるはずであるが、前述のように、準安定領域は自発的に結晶が検出されるまでの領域を定義したものであるため、種晶を添加して行う制御冷却操作の科学的意味については疑問がある。いずれにしても過飽和比を制御することが粒子径を制御する上で重要であることは間違いない。

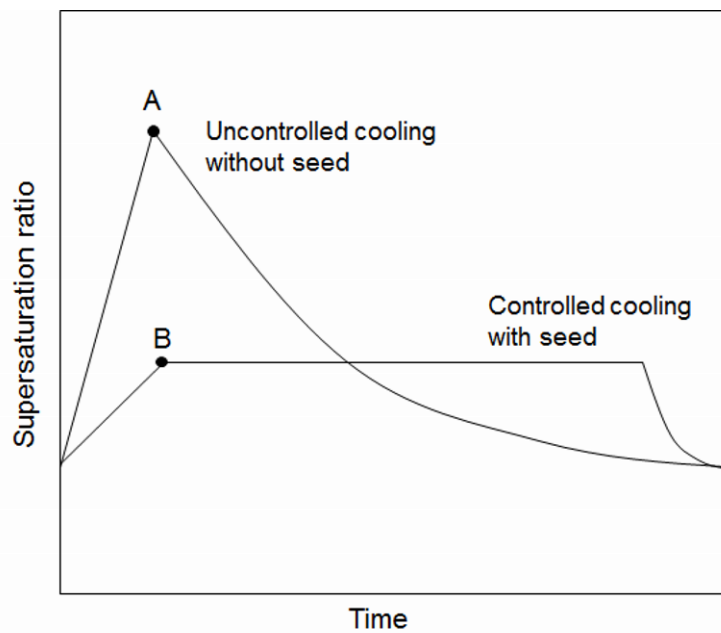


Figure 1-4. Two different supersaturation ratio profiles corresponding to the processes for Figure 1-3.

Figure 1-4 で示したような操作過飽和比を変化させる因子としては、冷却速度、貧溶媒滴下速度などが挙げられる。しかしながら、操作条件の制約によっては、過飽和比を所望の値まで制御することは困難となる場合がある。例えば、実機製造における晶析液の冷却は時間がかかるため、冷却速度を速くするにも限界がある。これは貧溶媒滴下も同様である。反対に冷却時間を長くすることは不可能ではないが、現実的には生産効率の観点から制限がある。従って、過飽和比に依存した手法では、目的とする粒子径の結晶が得られないという問題点が生じることがある。

1.4 本研究の目的と各章の概要

本研究では、体内への溶出性を向上させるために結晶を微小化する必要がある医薬品原薬(API-B)と、ろ過速度向上のためのアスペクト比の小さい粗大な結晶が必要とされる医薬品原薬(API-T)の晶析について検討した。両医薬品原薬ともに、過飽和比を制御する手法では所望の粒子径が得られないため、何らかの手法により粒子径を制御する必要があった。前項(1.3)で記載したように、核発生を制御することが結晶の粒度制御に重要である。特に核発生のタイミングに変化を生じさせることができれば、得られる結晶をより微小にする、あるいは大きくすることができる可能性がある。そこで本研究では、過飽和比に依存せず、かつ核発生のタイミングを制御可能とする手法により、医薬品原薬の結晶粒子径を制御することを試みた。

第2章では、高せん断攪拌機を活用した晶析検討についてまとめた。高せん断攪拌機は粉碎として利用できるほか、高速回転がもたらす高せん断力を活用し、分散や混合を行うことができる。医薬品製造においては、頻繁に用いられる晶析槽に備わっている3枚後退翼などの攪拌によって混合、あるいは結晶化といった操作が行われてきた。高せん断攪拌機は従来の攪拌翼がもたらす翼先端速度を大きく上回る回転速度が可能であり、スリットと呼ばれる微小の隙間を流体が高速で移動することで生じるせん断力によって様々な効果が得られる。そこで本章では、粒度制御にさらに幅を持たせるように、高せん断攪拌機を晶析プロセスに導入し、その付加価値について検討した。

第3章では、液液相分離であるオイルアウト現象に関して、オイル滴内における晶析機構について検討した。オイルアウト現象は有機化合物を用いた晶析においてしばしば見受けられるが、その晶析メカニズムについてはあまり知られていない。オイルアウトすると2相に分離され、攪拌条件下ではオイルは液滴として存在する。異なる攪拌条件下においてはオイル滴のサイズが異なることを利用して、そのサイズが核生成に与える影響を考察し、粒度制御の可能性について検討した。

第4章では、第3章と同様にオイルアウト現象を利用し、溶媒組成の影響に関してまとめた。オイルアウトすると2相に分離するが、混合溶媒の場合には各相がそれぞれ初期組成とは異

なる溶媒組成となる。また化合物の分配比率も各相において異なる。液液相分離前の溶媒組成が異なる場合、分離後の化合物の各相における分配比率が変化することを利用して、結晶の粒子径やアスペクト比の制御を検討した。

第 5 章では、本研究で示した高せん断攪拌機による 2 次核発生の促進効果とオイルアウト晶析を活用することによる核発生制御についてまとめ、医薬品原薬の結晶粒度制御における本手法の意義について総括した。

使用記号と単位

C:	濃度	[mol/m ³]
t:	時間	[s]
D:	拡散定数	[m ² /s]
S:	固体表面積	[m ²]
V:	溶液体積	[m ³]
h:	拡散層の厚さ	[m]
C _s :	溶解度	[mol/m ³]
α:	ケーキ比抵抗	[m/kg]
k:	コゼニー係数	[-]
S ₀ :	粒子単位体積あたりの表面積	[m ² /m ³]
ε:	空隙率	[-]
ρ:	粒子密度	[kg/m ³]
ψ:	カルマンの形状係数	[-]
D _p :	粒子径	[m]

引用文献

- (1) Food and Drug Administration, "Guidance for industry: Q11 Development and manufacture of drug substances", 2012.
- (2) Food and Drug Administration, "Guidance for industry: waiver of In vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system", 2000.
- (3) Noyes, A. A.; Whitney, W. R., "The rate of solution of solid substances in their own solutions", *J. Am. Chem. Soc.* 1897, *19*, 930–934.
- (4) Dokoumetzidis, A.; Macheras, P., "A century of dissolution research: From Noyes and Whitney to the biopharmaceutics classification system", *Int. J. Pharm.* 2006, *321*, 1–11.
- (5) 厚生労働省医薬食品局, "後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドライン等の一部改正について", 2012.
- (6) Chu, K. R.; Lee, E.; Jeong, S. H.; Park, E., "Effect of particle size on the dissolution behaviors of poorly water-soluble drugs", *Arch. Pharm. Res.* 2012, *35*, 7, 1187–1195.
- (7) 松本 幹治, "ユーザーのための実用固液分離技術", 分離技術会. 2010, 135–136.
- (8) Food and Drug Administration, "Guidance for industry: SUPAC: Manufacturing equipment addendum", 2014.
- (9) Wu, Y.; Loper, A.; Landis, E.; Hettrick, L.; Novak, L.; Lynn, K.; Chen, C.; Thompson, K.; Higgins, R.; Batra, U.; Shelukar, S.; Kwei, G.; Storey, D., "The role of biopharmaceutics in the development of a clinical nanoparticle formulation of MK-0869: a Beagle dog model predicts improved bioavailability and diminished food effect on absorption in human", *Int. J. Pharm.* 2004, *285*, 135–146.

- (10) Chanda, A.; Daly, A. M.; Foley, D. A.; LaPack, M. A.; Mukherjee, S.; Orr, J. D.; Reid, G. L.; Thompson, D. R.; Ward, H. W., "Industry perspectives on process analytical technology: tools and applications in API development", *Org. Process Res. Dev.* 2015, *19*, 63–83.
- (11) Harter, A.; Schenck, L.; Lee, I.; Cote, A., "High-shear rotor-stator wet milling for drug substances: expanding capability with improved scalability", *Org. Process Res. Dev.* 2013, *17*, 1335–1344.
- (12) Shavnya, A.; Tao, Y.; Lilley, S. C.; Bahnck, K. B.; Munchhof, M. J.; Nematalla, A.; Waldo, M.; Bill, D. R., "Exploratory process development of a novel diacylglycerol acyltransferase-1 (DGAT-1) Inhibitor", *Org. Process Res. Dev.* 2013, *17*, 1510–1516.
- (13) Mullin, J. W., "Crystallization 4th Edition", Elsevier. 2001, 86–215.
- (14) 豊倉 賢, "化学工学便覧 改訂五版", 丸善. 1988, 434–436.
- (15) Mullin, J. W.; Nyvlt, J., "Programmed cooling of batch crystallizers", *Chem. Eng. Sci.* 1971, *26* (3), 369–377.
- (16) Zhou, G. X.; Fujiwara, M.; Woo, X. Y.; Rusli, E.; Tung, H. H.; Starbuck, C.; Davidson, O.; Ge, Z.; Braatz, R. D., "Direct design of pharmaceutical antisolvent crystallization through concentration control", *Cryst. Growth Des.* 2006, *6*, 892–898.

第2章

高せん断攪拌機を用いた2次核発生の促進による 結晶粒度制御

2.1.1 緒言

近年の医薬品原薬は難水溶性化合物の増加に伴い、体内の吸収向上のために化合物の微粒子化が求められることが多くなってきている。本章で用いた医薬品原薬 API-B も微粒子化が必要であった。化合物を微粒子化するためには、粉碎操作等のブレイクダウン法と晶析操作等のビルドアップ法が用いられる。第 1 章に記載したように乾式粉碎における問題点として、粉体の封じ込め対策、粉碎機内の原薬の固着による生産性の低下および付着残留による収率低下、熱安定性の問題などが挙げられる^{1,2}。API-B においても開発初期に検討されたジェットミルでは粉碎機内において多量の粉体固着が発生し、運転を継続することが困難であった。また同じく乾式粉碎であるピンミルでは、目的の粒子径まで微粒子化することができなかった。

乾式粉碎の問題点を克服する方法として、高せん断攪拌機を用いた湿式粉碎の事例が報告されている³⁻⁷。同攪拌機はマイクロスケールの隙間を高速で流体が移動することで生じるせん断力によって粒子の分散や混合、粉碎が行われる⁸。しかし、粉碎機として用いた場合の粉碎能力はジェットミルと比較して低く、API-B も目的粒子径までの粉碎は不可能であった。

一方、晶析操作による化合物の微粒子化の一般的な方法として、高過飽和状態における結晶化方法、すなわち高濃度の化合物溶液を貧溶媒へ滴下する方法が挙げられる⁹。高濃度の化合物溶液が滴下された箇所では局所的に高過飽和状態が形成され、微小な結晶の取得が可能となる。しかし、同方法においては局所的な部分において瞬時の混合が必要となり、混合状態は攪拌槽の仕様の違い、例えば攪拌翼の種類や邪魔板の有無などによって大きく異なることから、その制御は非常に難しいといえる。また攪拌槽の設計において代表的な指標である単位体積あたりの攪拌所要動力一定においてスケールアップした場合には、完全混合時間がスケールが上がるにつれて長くなってしまいうため、瞬間的な混合が困難になるという欠点がある^{10,11}。

瞬間的な混合を促進し、微小な結晶を得る方法の一つとして、インピンジングジェットミキサー (Impinging jet mixer) を使用した晶析方法が挙げられる¹²⁻¹⁴。同混合方式では、2 つの別の

管を流体がそれぞれ高速で移動し、結合部において衝突することで混合効率を高めることができる。しかしながら、この方法は 2 液の混合部流量比が非常に重要となるため、化合物溶液と貧溶媒の量を等しくする必要があるのであるなど制限がある。

瞬間的な混合を促進する目的に対しては、高せん断攪拌機も挙げられる。高せん断攪拌機は前述のように、化合物の粉碎に用いられるほか、流体の混合にも利用できる。そこで本章では、瞬間的な混合を促進できる高せん断攪拌機を晶析に組み込み、API-B 結晶の微粒子化を検討した。同攪拌機は直接晶析槽に設置して攪拌することも可能であり、循環ラインに導入することも可能である。ただし、直接晶析槽へ設置することは既存設備の設備改造が必要になるため、本検討では高濃度の化合物溶液を貧溶媒に滴下する手法をセミバッチ循環方式に適用した。

2.1.2 2 次核発生速度

前述のように結晶の粒子径を制御するためには、核発生が非常に重要である。2 次核発生における攪拌の影響は様々な文献で報告されており、2 次核発生速度は工業的スケールの経験式として式(2-1)のように提案されている¹⁵。

$$B = k_B M_T^j \sigma^b N^s \quad (2-1)$$

ここで、 M_T は懸濁密度、 σ は過飽和比、 N は攪拌速度を示す。2 次核発生が支配的である時、 j は 1 に近づき、 b は 0.5~2.5 の値をとり、 s は 2~4.6 の値をとるとされている¹⁵。高せん断攪拌機は医薬品製造で用いられる従来の攪拌槽における攪拌と比較して、攪拌速度が大幅に速いことが特徴として挙げられる。従って、式(2-1)によると同じ過飽和比においても攪拌速度が増大するため、高せん断攪拌機を用いると 2 次核発生速度が増大することが期待される。2 次核発生速度が増大すると発生する結晶の個数が増加することから、物質収支より最終的に得られる結晶の粒子径は小さくなる。

過飽和比と懸濁密度は、晶析途中で変化し得る因子であり、化合物溶液を貧溶媒に滴下する場合、滴下速度によって過飽和比や懸濁密度の推移が異なると考えられる。溶液を循環ライン中の高せん断攪拌機へ供給する本方法では、滴下速度に相当する因子は循環流量に対する供給流量の比となる。そこで、過飽和比と懸濁密度の挙動については、供給流量/循環流量を変えた実験により確認した。

2.2 実験

2.2.1 原料

本章で使用した医薬品原薬 API-B は万有製薬株式会社によって製造され、分子量は約 450 の有機化合物である。アセトンとメタノールは試薬特級、水は蒸留水を用いた。

2.2.2 溶解度測定

API-B のメタノール/水系に対する溶解度測定は、水分率(0~1)、温度 0~20 °C の範囲で行った。所定温度下、所定水分率の溶媒に懸濁状態となるように十分に原薬を供給し、懸濁液を所定時間攪拌した後、結晶ろ過後の上澄み中の API-B 濃度を HPLC (High Performance Liquid Chromatograph) で逆相カラムに移動相としてアセトニトリル水系溶媒を用いて測定した。

2.2.3 粉碎実験

攪拌翼を設けた 100 mL の晶析装置に API-B (1 g) を仕込み、アセトン(20 mL)を加えて室温で溶解させた。同溶液を攪拌しながら貧溶媒である水(40 mL)を滴下し、結晶化させた。攪拌翼を取り外し、代わりに Figure 2-1 に示す高せん断攪拌機(IKA ジャパン)を設置し、同懸濁液を 24,000 rpm で 2 時間粉碎した。得られた結晶の粒子径はレーザー回折式粒度分布測定装置マイクロトラック(日機装)で測定した。高せん断攪拌機は T25 と呼ばれる本体部分と回転部分を含む G18 と呼ばれるシャフトを有している。また G18 の先端にはローター及びステ

ーターと呼ばれる2つの円形の歯を有しており、ステーターはローターの外側に固定されており、内側にあるローターだけが高速回転する。Figure 2-2 にローターステーターと回転時の流体と粒子の流動の模式図を示す。各ローターステーターは歯と歯の間にスリットと呼ばれる隙間があり、またローターとステーターとの間にも隙間がある。この隙間を流体が高速で移動することで、高いせん断力が生じ、分散や混合、または粒子の破碎が起こる。

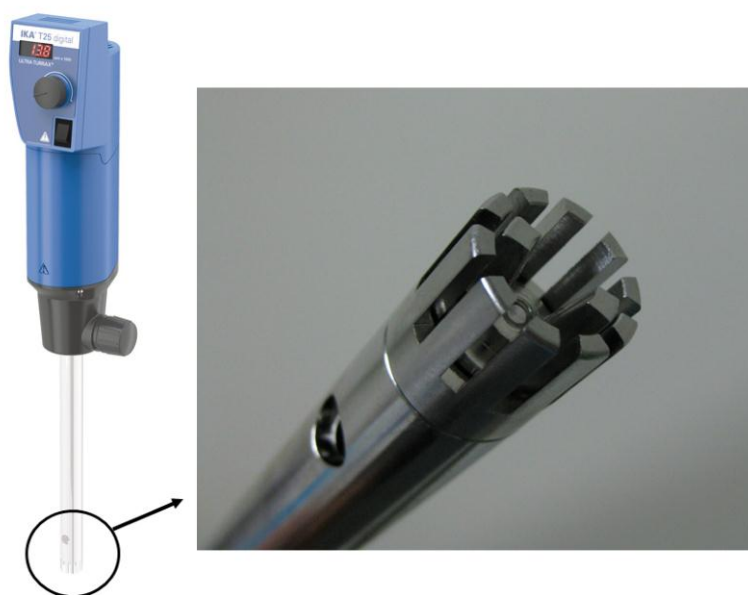


Figure 2-1. High shear mixing device, T25 at laboratory scale (left) and the shaft, G18 (right).

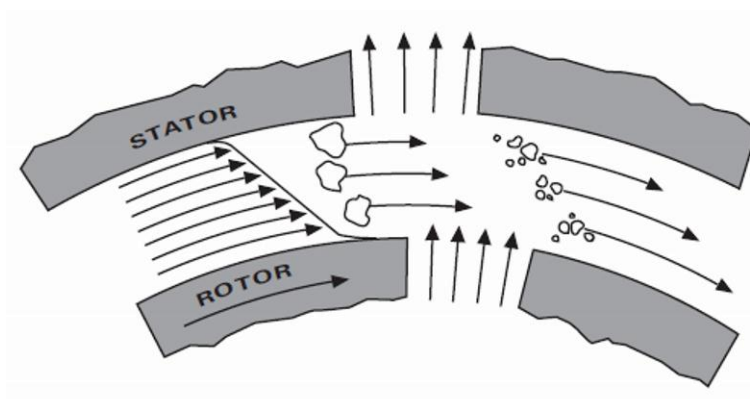


Figure 2-2. Schematic diagram of mixing by rotor-stator. Arrows show the moving direction of particles and fluid.

2.2.4 回分晶析実験

攪拌翼または高せん断攪拌機の2つをそれぞれ100 mLの晶析装置に設置した。同晶析装置に貧溶媒である水(40 mL)を仕込み、別途API-B(1 g)をメタノール(20 mL)に60 °Cで溶解させた溶液を瞬時に滴下した。攪拌翼の回転数は、700 rpm(単位体積あたりの攪拌所要動力:0.93 W/kg)であり、高せん断攪拌機を使用した場合は、6,400 rpm(160 W/kg)と24,000 rpm(600 W/kg)で行った。得られた結晶の粒子径はマイクロトラックで測定した。

2.2.5 半回分晶析実験

循環ラインを備えた600 mLスケールの実験装置の概略をFigure 2-3、実験条件をTable 2-1に示す。貧溶媒である水(400 mL)を同装置に仕込み、内温5 °Cに保ち1,846 mL/minの流量で循環させながら、60 °CのAPI-Bの化合物溶液(API-B 10 g, メタノール 200 mL)を循環ライン中の高せん断攪拌機の入り口部分に供給した。供給流量は、2~240 mL/minの範囲で行っており、供給時間はその流量に依存し、それぞれ異なる。各供給流量を変えた実験で得た結晶の粒子径はマイクロトラックで測定した。晶析槽の攪拌速度は300 rpmとし、高せん断攪拌機の翼先端速度は21.4 m/sとした。晶析の進行を確認するために、ベッセルにメトラート社製インライン式粒度測定装置FBRM®(Focused Beam Reflectance Measurement)を取り付けた。

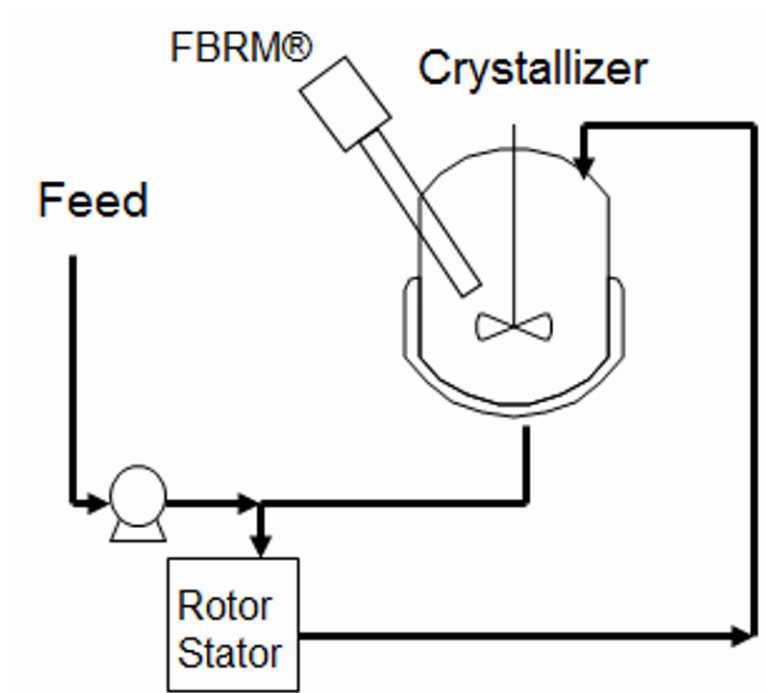


Figure 2-3. Schematic diagram of laboratory scale setup.

Table 2-1. Operating conditions across scales.

	Pilot	Laboratory
Scale (batch volume)	1,000 L	600 mL
Agitation speed (vessel)	90 rpm	300 rpm
Temperature (crystallizer)	5 °C	5 °C
Flow ratio (feed/circulation)	0.020	0.0011-0.13
Rotor-stator tip speed	21.4 m/s	21.4 m/s

2.2.6 パイロット製造

パイロットプラントの概略図を Figure 2-4 に示す。半回分晶析の実験条件を元にパイロットスケールの条件を設定した (Table 2-1)。主要なスケールアップ因子は、高せん断攪拌機の翼先端速度と供給流量/循環流量である。晶析槽の攪拌速度は 90 rpm とし、高せん断攪拌機の翼先端速度は半回分晶析実験と同じ 21.4 m/s とした。API-B (16.5 kg) をメタノール (330 L) に 60 °C で溶解し、供給槽に仕込んだ。貧溶媒である水 (660 L) を晶析槽に仕込んで 5 °C に冷

却し、高せん断攪拌機を設けたラインを通じて循環した。化合物溶液は、循環ラインの高せん断攪拌機入り口部分へ一定速度(供給流量/循環流量:0.02)で供給した。供給ラインの流量制御のために質量流量計を用いた。結晶析出時の閉塞に対処するために圧力計を設置し、結晶溶解用の高温のメタノールを導入できるラインを供給部分に加えた。

パイロットスケールの高せん断攪拌機を Figure 2-5 に示す。攪拌機本体に加えて、上部に攪拌軸用循環型シール液と攪拌モーターを別途設置している。攪拌機本体の内部の様子を Figure 2-6 に示す。攪拌機本体の内部には3段のローターステータを有しており、上段から”ハイフロー”(high-flow)、“ミディアム”(medium)、“ファイン”(fine)と呼ばれるローターステータを使用した。下段に向かうほど混合効率が高くなる組み合わせとなっており、“ハイフロー”は循環速度を向上させる構造を有している。パイロット製造中の晶析槽内温、ジャケット温度、循環流量と供給ポンプの吐出圧をモニタリングした。2時間ごとに晶析槽内からサンプルを取得し、マイクロトラックで結晶の粒子径を測定した。

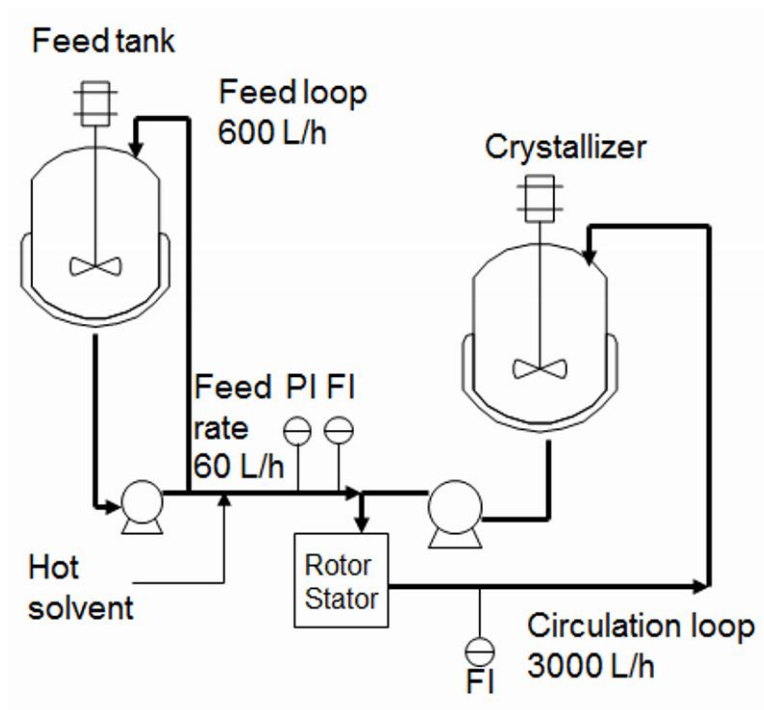


Figure 2-4. Schematic diagram of pilot scale setup.

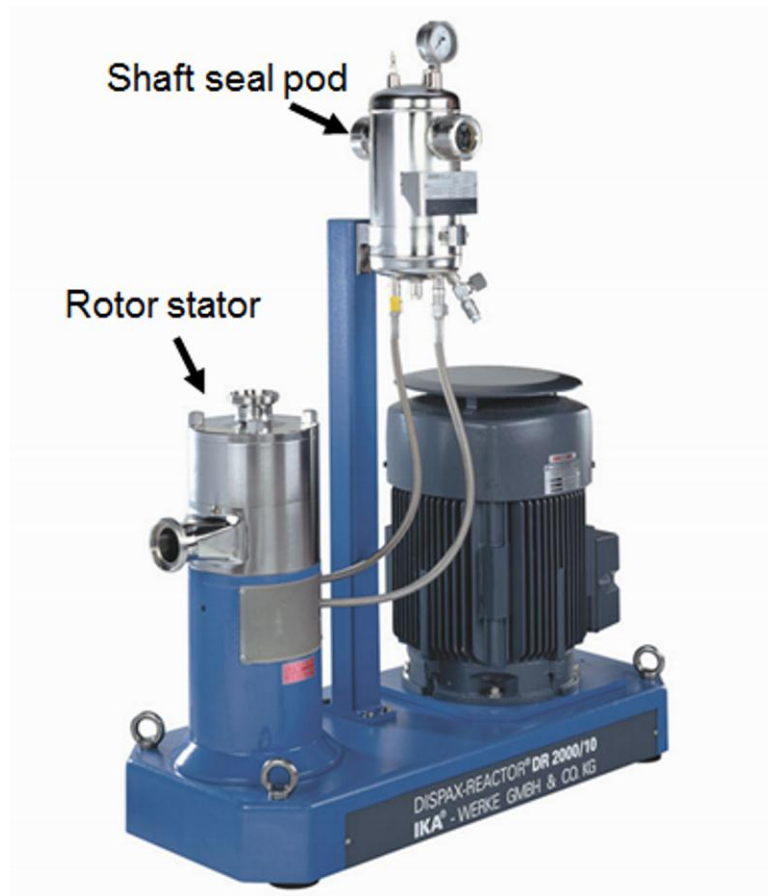


Figure 2-5. High shear mixing device for pilot plant.



Figure 2-6. Three stage rotor-stators.

2.3 結果と考察

2.3.1 粉碎による微粒子化

API-B は体内における溶出性向上のために微粒子化が必要であり、医薬品の開発初期段階において、乾式粉碎が試されていた。しかしながら目的粒子径(10 μm)を達成することができなかつたため、別途湿式粉碎による方法を試みた。粉碎効果を確認するために、通常の攪拌翼を用いた晶析で大きな結晶を得た後で、粉碎操作を実施した。Figure 2-7 にアセトン水から晶析させた結晶の顕微鏡写真を示す。針状結晶の長軸方向の長さは大きい結晶で 100 μm 以上であることがわかる。得られた結晶を粉碎するために、攪拌翼を Figure 2-1 に示した高せん断攪拌機に取り替えた。Figure 2-7 に示した結晶を高せん断攪拌機を用いて 24,000 rpm で 2 時間湿式粉碎した結果、平均粒子径 23 μm の結晶が得られた。さらに湿式粉碎を続けても 10 μm までの微粒子化はできなかつたため、高せん断攪拌機の 24,000 rpm における粉碎限界粒子径に到達していると考えられた。また装置の仕様上 24,000 rpm 以上は回転数を上げることができないため、高せん断攪拌機を用いた湿式粉碎によって結晶を 23 μm 以下に微粒子化することは困難であることがわかつた。

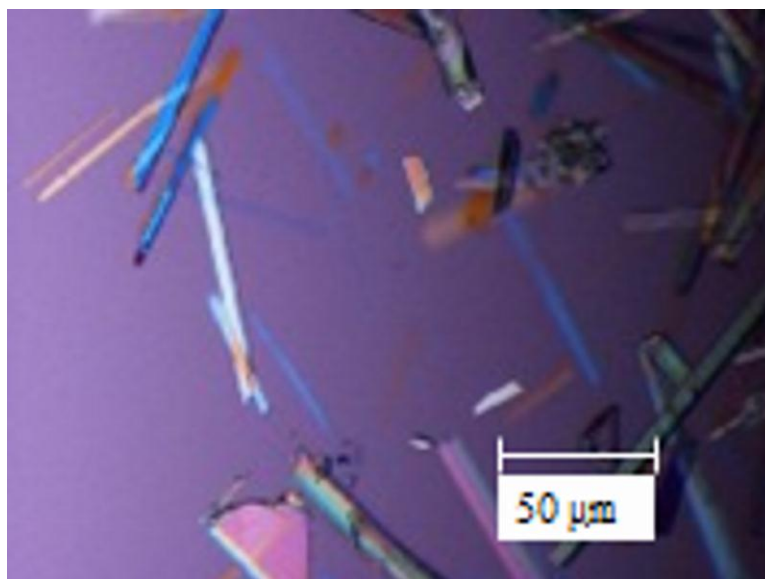


Figure 2-7. Micrograph of crystals obtained after the crystallization in acetone/water solvent system.

2.3.2 攪拌効率が粒子径に与える影響(回分晶析実験)

式(2-1)によると、懸濁密度と過飽和比、攪拌効率が2次核発生速度を制御する3つの重要な因子である。汎用的に用いられている攪拌翼と高せん断攪拌機の攪拌効率が粒子径に与える影響を回分晶析実験で確認した。回分晶析実験の化合物仕込み重量と溶媒量、組成は同じであるため、初期過飽和比や定常状態における懸濁密度は同じである。Table 2-2に攪拌翼と高せん断攪拌機の回転数と対応する単位体積あたりの攪拌所要動力、及び得られた結晶をマイクロトラックで測定した平均粒子径の結果を示した。攪拌効率は攪拌速度のほか、攪拌翼の径や形状によっても異なるため、2つの異なる種類の攪拌機を比較するために単位体積あたりの攪拌所要動力を用いた。攪拌翼の単位体積あたりの攪拌所要動力は1 W/kg以下であるのに対して、高せん断攪拌機は160, 600 W/kgと大きな値となっており、攪拌効率が非常に高いことがわかる。

Table 2-2. Relation of mixing intensity and crystal size obtained by the batch crystallization experiments.

	Stirrer	Rotor-stator	
Agitation speed [rpm]	700	6,400	24,000
Power input per unit weight [W/kg]	0.93	160	600
Mean crystal size [μm]	20	9	7

Table 2-2 の結果から、高せん断攪拌機の使用により、従来の攪拌翼では達成できない 10 μm 以下のレベルまで、微小な結晶が調製できていることがわかる。実験後の懸濁液を 20 分間攪拌、または高速せん断を延長しても粒子径に変化は見られなかった。本実験では、晶析開始時点から攪拌翼または高せん断攪拌機は回転しているため、晶析中の 2 次核発生に影響を与えていたと考えられる。前項 (2.3.1) で示したように、一度晶析操作を行ってから得られた晶析懸濁液において高せん断攪拌機を回転させても、所望の粒子径までの微粒子化はできなかった (23 μm)。粉碎実験における高せん断攪拌機の回転数は回分晶析実験と同じ 24,000 rpm で行っており、同回転における粉碎限界粒子径が 23 μm であることを考慮すると、回分晶析実験で得られた 7 μm という結果は、粉碎によるものではなく、式 (2-1) にあるように高速回転がもたらす 2 次核発生の促進によるものであるといえる。

2.3.3 供給流量比が粒子径に与える影響 (半回分晶析実験)

Figure 2-3 に示した循環式の半回分晶析実験を実施した。水を循環しているラインに設置された高せん断攪拌機の入り口部分に API-B のメタノール溶液を供給した。Figure 2-8 に API-B のメタノール水系における溶解度を示した。半回分操作の初期は、貧溶媒である水のみが循環しているため、晶析槽内の液における水分率は 1 となる。API-B のメタノール溶液が、高せん断攪拌機の入入口部分を通じて加えられると、水分率は徐々に減少し、供給終了時の最終組成の水分率は 0.67 となる。Figure 2-8 の溶解度データから実験を通して溶解度は非常

に低く推移していることがわかる。すなわち API-B 溶液が供給される局所的な部分においては、核発生が起りやすい高い過飽和比で推移することになる。

式(2-1)より、2次核発生速度は攪拌速度の他に、過飽和比と懸濁密度の関数となっている。実験中の過飽和比や懸濁密度の推移は、回分晶析では溶液の滴下時間によって変化し、循環ラインを用いた半回分晶析実験においては、供給流量/循環流量によって変化する。そこで、過飽和比と懸濁密度の推移の違いによる2次核発生の影響を考慮するため、供給流量/循環流量を変化させた実験を行い、得られる結晶の粒子径への影響を確認した。Figure 2-9, 10 に実験中にモニタリングした FBRM のデータを示す。Figure 2-9 は単位時間当たりのカウント数と呼ばれる値の経時変化を示しており、FBRM のレーザーが粒子を横切った時にカウントされるため、結晶個数増加に伴い増大する値である。Figure 2-10 は、平均コード長と呼ばれる値の経時変化を示しており、同じくレーザーが粒子を横切った時の長さに相当し、粒子径が大きくなると増大する値である。Figure 2-9 で示されるように、単位時間当たりのカウント数が供給開始時点から急激に増大していることから、核発生は供給開始初期から起っていることがわかる。また供給流量/循環流量が小さい方が、カウント数は大きくなっていることがわかる。供給が遅い時には同時間において全体の液量は少なくなる。カウント数はレーザーの検知範囲内の粒子数によって増減する値であるため、結晶懸濁密度が高い時は相対的に大きくなる。従って供給液量が少ない時は晶析槽の液量が少ない分、懸濁密度が高くなることから、カウント数が一時的に大きくなっていると考えられる。一方で平均コード長は、初期は結晶析出量が少ないため変動したが、やがて定常状態に達しており、晶析中はほぼ同じ粒子径で推移していたと考えられる(Fig. 2-10)。供給流量/循環流量:0.13, 0.043, 0.019 において、滴下時間はそれぞれ 50, 150, 340秒であったが、それよりも十分に長い実験時間において、平均コード長の大幅な減少は見られなかったことから、粉碎による結晶の破碎の影響はないことが確認できる。供給流量/循環流量:0.019 で得られた結晶の顕微鏡写真を Figure 2-11 に示す。顕微鏡写真から、得られた結晶は非常に微小であり、長軸方向の長さは大きい結晶で 15 μm であった。Table 2-3 に各流量比の実験で得られた結晶の平均粒子径をマイクロトラックで測定した結果

を示す。供給流量/循環流量:0.13 の時は若干小さい結晶が得られたが、幅広い流量比範囲で同等粒子径の結晶が得られることがわかった。前述のように供給流量/循環流量を変える事で、過飽和比や懸濁密度の推移が変わる可能性があったが、Table 2-3 の結果より 2 次核発生速度に与える影響は少なく、実験条件下では 2 次核発生には攪拌速度が支配的であったと考えられる。

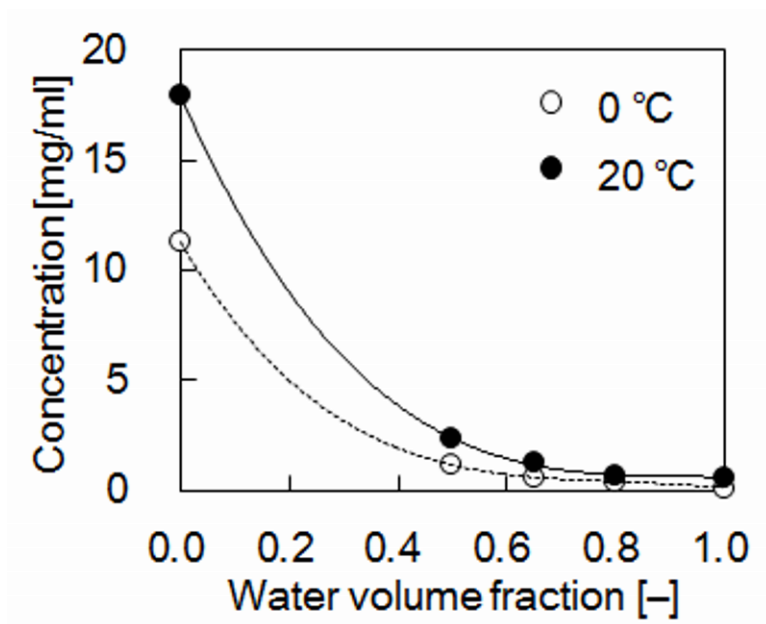


Figure 2-8. Solubility of API-B in MeOH/water solvent system.

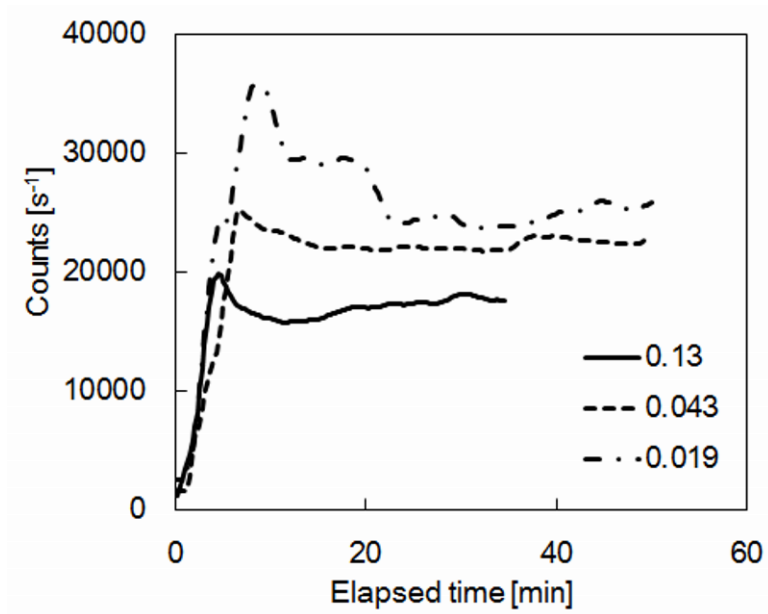


Figure 2–9. Profiles of counts measured by FBRM for different flow ratios of feed/circulation.

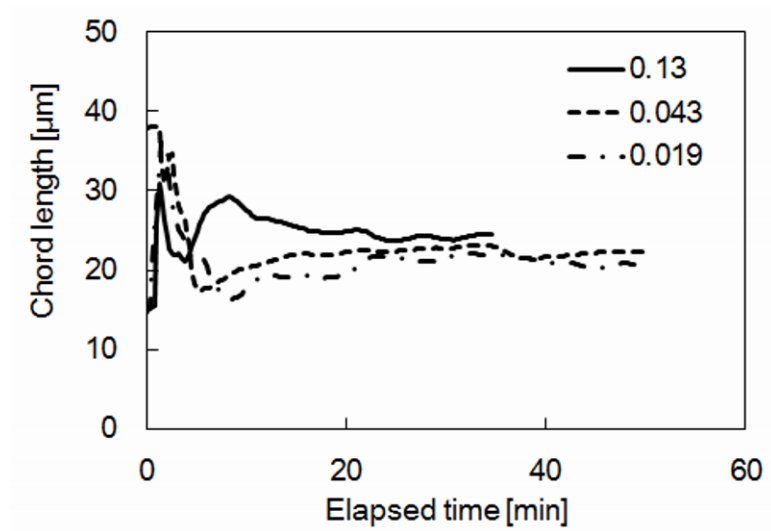


Figure 2–10. Profiles of chord length measured by FBRM for different flow ratios of feed/circulation.

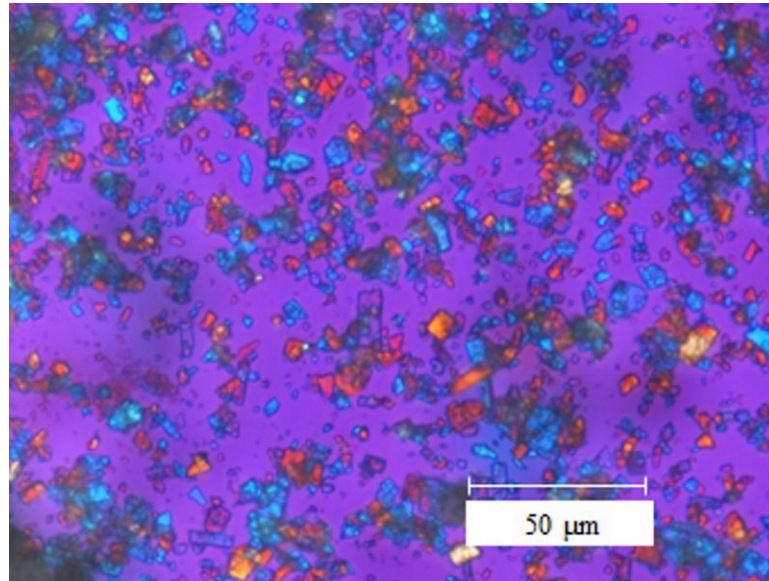


Figure 2–11. Micrograph of crystals obtained from the semi-batch crystallization experiment with feed/circulation of 0.019.

Table 2–3. Mean crystal size measured by Microtrac for different flow ratios of feed/circulation.

Feed/circulation [-]	Mean crystal size [μm]
0.13	8
0.043	10
0.019	10
0.0011	10

2.3.4 翼先端速度一定によるスケールアップ確認

実験室で得られた結果の検証として、1,000 L のパイロットスケール製造を実施した。Table 2-1 に示したように、パイロット製造における高せん断攪拌機の翼先端速度を半回分晶析実験と同じにすることで、攪拌効率を実験室スケールと同等とし、同スケールにおいても 2 次核発生を促進することを検証した。パイロット製造では、ローターステーター機内や供給管内において粉体が固着により蓄積し、供給流量や圧力が変動する可能性があった。そのため、高温のメタノールで溶解洗浄できるように、洗浄用導入口を供給ラインに加えた (Fig. 2-4)。また質量流量計と圧力計をローターステーターの上流側に設置し、固着の進行や流路の閉塞がないかモニタリングした。ローターステーターの操作中の熱生成、及び循環戻りラインから液が晶析槽内へ流入することで泡の形成が懸念された。そこで溶媒のみによる模擬運転を実施し、泡形成の影響はないことと温度制御が可能であることを予め確認した。

Figure 2-12 は操作中の晶析槽内の温度とジャケット温度の推移を示す。API-B 溶液の供給初期は、熱生成による温度の上昇が観測されたが、ジャケット温度を操作することで晶析槽内温度を制御し、操作中の晶析槽内温を概ね 5 °C に保った。操作中の循環流量と圧力変化を Figure 2-13 に示す。循環流量は操作を通じて徐々に減少したが、これは結晶化進行により、溶液の密度に変化があったためではないかと考えられる。ここで循環流量の変動により、供給流量/循環流量にも変動があったと考えられるが、前項 (2.3.3) に記載したとおり、半回分晶析実験の結果より、供給流量/循環流量の変化は得られる結晶粒子径に大きな影響を与えないことが確認されている。API-B 溶液の供給が進むにつれ、ローターステーター機内や供給管内の閉塞によって徐々に圧力が上昇した。約 3 時間の供給後、圧力が急激に上昇したため、高温のメタノールを洗浄供給口より供給し、固体の蓄積物を溶解した。メタノールによる洗浄後、圧力が元の状態に戻ったことがわかる (Fig. 2-13)。パイロット製造では、API-B 溶液供給中に定期的に晶析懸濁液をサンプリングして、得られた結晶をマイクロトラックにて粒子径測定を行った。Table 2-4 に示したように晶析中は、平均粒子径の大きな変動が無かったことがわかる。これは半回分晶析実験で得られた知見と一致している。また得られた結晶の粒子径は半回分

晶析実験の結果とほぼ同じであったため、高せん断攪拌機を用いたスケールアップで一般的である翼先端速度を一定にする方法は、晶析操作を伴う本手法においても適用でき、同等の攪拌効率が得られたと考えられる。これらの結果から、式(2-1)にあるように攪拌効率が2次核発生に影響を与えており、スケールの異なる製造においても、微小な結晶の粒子径を制御できることを示した。

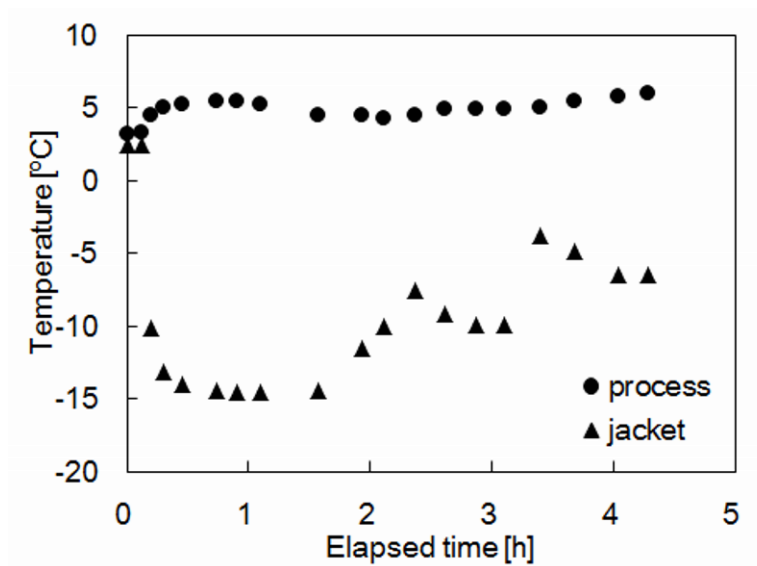


Figure 2-12. Temperature profiles in crystallizer during the manufacturing at pilot scale.

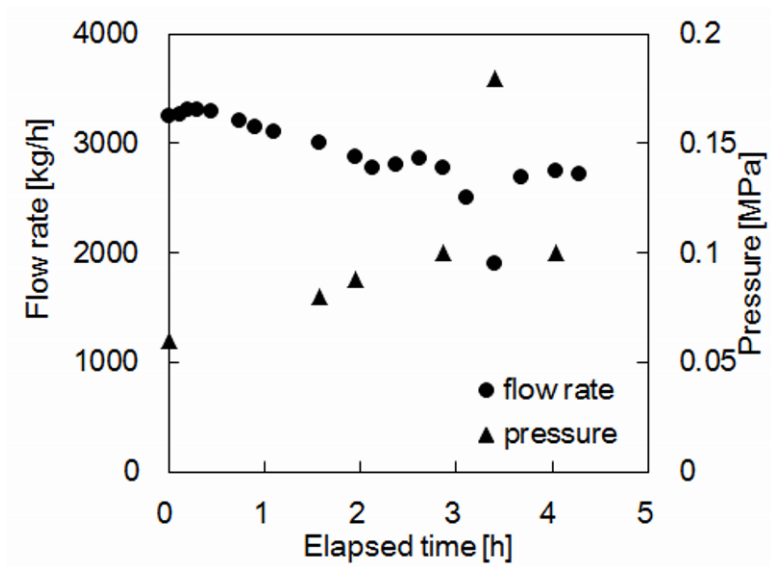


Figure 2-13. Circulation flow rate and feed pressure profiles during the manufacturing at pilot scale.

Table 2–4. Mean crystal size measured by Microtrac at each elapsed time of the pilot scale manufacturing.

Elapsed time [h]	Mean crystal size [μm]
2	9
4	10
4.5	9

2.4 結言

医薬品原薬 API-B の晶析において、高せん断攪拌機を用いて微結晶の製造を試みた。API-B を晶析させた後に、湿式粉碎のために高せん断攪拌機を用いた粉碎実験の結果から、高せん断攪拌機では粒子径 23 μm までの粉碎が限界であり、目的粒子径 (10 μm 以下) に粉碎する能力が無いことがわかった。回分晶析実験の結果から、攪拌効率を増大させることで、同じ過飽和比であっても微小な結晶が得られることを示した。本結果は、晶析後の粉碎のような粒子の破碎機構と対照的に、晶析中の高せん断状態における 2 次核発生の促進を利用した微粒子化である。半回分晶析実験において、供給流量/循環流量を変える実験を行い、得られる結晶の粒子径に影響が無いことを確認した。つまり本条件においては、2 次核発生速度の関数である過飽和比と懸濁密度の推移の差による影響は少なく、攪拌効率が粒度制御において支配的であることがわかった。晶析中の変動を FBRM を使用してモニタリングした結果、API-B 溶液の供給開始直後から、核発生は起こっており、結晶粒子径は概ね一定で推移していたことがわかった。パイロット製造において、圧力変動から固体の蓄積が懸念されたが、高温のメタノール洗浄により、溶解し取り除くことができ、API-B 溶液の供給を一定に保つことが可能となった。パイロット製造では攪拌効率を一定にしてスケールアップすることで、半回分晶析実験と同等の結晶粒子径を達成できた。これらから、マイクロ空間の高せん断力を利用して 2 次核発生を促進し、過飽和比やスケールに依存しない本方法は、従来の攪拌槽による晶析では得られない微小な結晶の取得方法として提案できると考えられる。

使用記号と単位

B:	2次核発生速度	$[\#/m^3/s]$
k_B :	2次核発生速度係数	$[\# \cdot m^{3j-3} \cdot kg^{-j} \cdot s^{s-1}]$
M_T :	結晶懸濁密度	$[kg/m^3]$
σ :	過飽和比	$[-]$
N:	攪拌速度	$[1/s]$
j:	懸濁密度乗数	$[-]$
b:	過飽和比乗数	$[-]$
s:	攪拌速度乗数	$[-]$

引用文献

- (1) 田中 謙次, "粉体工学便覧 第2版", 日刊工業. 1998, 291–308.
- (2) 田中 守, "製造プロセスのスケールアップの正しい進め方とトラブル対策事例集", 技術情報協会. 2012, 34–35.
- (3) Lee, I.; Variankaval, N.; Lindemann, C.; Starbuck, C., "Rotor-stator milling of APIs - empirical scale-up parameters and theoretical relationships between the morphology and breakage of crystals", *Am. Pharm. Rev.* 2004, 7, 120–123.
- (4) Zhang, J.; Xu, S.; Li, W., "High shear mixers: A review of typical applications and studies on power draw, flow pattern, energy dissipation and transfer properties", *Chem. Eng. Process* 2012, 57-58, 25–41.
- (5) Liu, L. X.; Rashid, A.; Marziano, I.; White, E. T.; Howes, T.; Litster, J. D., "Flowability of binary mixtures of commercial and reprocessed ibuprofen through high shear wet milling (HSWM) with lactose", *Adv. Powder Technol.* 2012, 23, 454–458.
- (6) Engstrom, J.; Wang, C.; Lai, C.; Sweeney, J., "Introduction of a new scaling approach for particle size reduction in toothed rotor-stator wet mills", *Int. J. Pharm.* 2013, 456, 261–268.
- (7) Harter, A.; Schenck, L.; Lee, I.; Cote, A., "High-shear rotor–stator wet milling for drug substances: expanding capability with improved scalability", *Org. Process Res. Dev.* 2013, 17, 1335–1344.
- (8) 和田 好夫, "事例トラブル解決から理解する製剤・原薬合成別スケールアップ", 情報機構. 2009, 197–201.
- (9) Tung, H. H.; Paul, E. L.; Midler, M.; McCauley, J. A., "Crystallization of organic compounds: An industrial perspective", Wiley. 2009, 179–206.

- (10) 大島 榮次, "化学工学便覧 改訂五版", 丸善. 1988, 897–900.
- (11) 山崎 康夫, "スケールアップで失敗しないための晶析操作/結晶多形に関わるトラブル事例とその原因/対策", 技術情報協会. 2004, 42–50.
- (12) Midler, M.; Paul, E. L.; Whittington, E. F.; Futran, M.; Liu, P. D.; Hsu, J.; Pan, S. H. U.S. Patent 5,314,506, 1994.
- (13) Hacherl, J. M.; Paul, E. L.; Buettner, H. M., "Investigation of impinging-jet crystallization with a calcium oxalate model system", *AIChE J.* 2003, *49*, 2352–2362.
- (14) Johnson, B. K.; Prud'homme, R. K., "Chemical processing and micromixing in confined impinging jets", *AIChE J.* 2003, *49*, 2264–2282.
- (15) 松岡 正邦, "結晶化学", 培風館. 2002, 31–32.

第3章

オイルアウト晶析におけるオイル滴径による 結晶粒度制御

3.1 緒言

貧溶媒添加や冷却晶析において液液相分離が見られることがあり、オイルアウト晶析として知られている。オイルアウト現象は、たんぱく質の晶析などにおいて多く報告されている¹⁴。オイルアウト晶析の研究に関しては、液液相分離の全体像を把握するために相図を用いることが多い^{5,6}。相図は特に多形を含むような複雑なケースのオイルアウト晶析を理解するのに役立つ^{7,8}。例えば相図を活用することで、晶析途中におけるオイルアウトを回避し、品質を向上させた事例が報告されている⁹。またオイルアウト晶析の機構を理解するために、インシチュのモニタリング機器を用いることによって、オイル化回避に対して有効であるという報告もある¹⁰⁻¹³。これらに見られるように工業プロセスにおいて、オイルアウト晶析は望ましくなく、可能であれば避けるべきであると考えられているため、低分子有機化合物のオイルアウトを経由した晶析に関する報告はあまりない。さらにオイルアウトすると、液液相分離時点における濃度以上にはならないため、過飽和比があまり高くならず¹⁰⁻¹³、場合によっては晶析が起こらないことも多く報告されている⁹。また **Derdour** はオイルアウトしやすく、結晶化が困難である原薬に対して、種晶として使用するための最初の結晶を獲得する手段を示している¹⁴。

これらはオイルアウトを積極的に利用した結果ではなく、数少ないオイルアウト晶析の研究においても、得られる結晶の粒子径に関する報告はほとんどないのが現状である。オイルアウトを経由し、利点を活かした事例として結晶の形態に関する研究があり、オイルアウトによって球形の結晶を作成した報告がある¹⁵。このように、オイルアウトが何らかの形で得られる結晶に影響を与えている可能性があるため、本章では医薬品原薬のオイルアウト晶析を研究し、オイルアウトが粒子径に与える影響について検討した。

3.2 実験

3.2.1 原料

本章で使用した医薬品原薬 API-T は武田薬品工業株式会社によって製造され、純度は 99.0 wt%であった。アセトンは試薬特級、水は蒸留水をそれぞれ和光純薬株式会社から得た。

3.2.2 溶解度と曇点測定

API-T のアセトン水混合溶媒における溶解度と曇点の測定は、Figure 3-1 に示す 5 つの試験管にそれぞれ温度制御ユニットと攪拌子を有するケミステーションTM(ChemiStation) (東京理化工械)を用いて、10~40 °Cの範囲で行った。溶解度は溶解量以上の結晶を溶媒に添加して測定した。API-T 濃度は、HPLC, LC-2010(島津製作所)を用いて測定した(カラム: CAPCELL PAK C18 MGII(資生堂)、移動相:りん酸緩衝液(pH 3.0)/アセトニトリル、波長: 230 nm)。曇点を測定するために、所定濃度の API-T を所定アセトン溶媒組成の溶媒に対して調製し、液液相分離が見られるまで溶液を徐々に冷却し、相分離が起こった温度を曇点とした。同実験を API-T 濃度(0.014–1.05 g/g-solvent)とアセトン溶媒組成(45–75 wt%)を変えて行った。



Figure 3-1. ChemiStationTM used in solubility and cloud point measurements.

3.2.3 オイルアウト晶析実験

オイルアウト晶析実験は、Figure 3-2 に示す 100 mL の 3 つ口/半楕円底の晶析装置に 3 枚後退翼と温度センサーを設置し、恒温槽で 20 °C に制御して行った。実験条件の選択には、晶析中とオイルの観測中におけるオイル滴の凝集を防ぐように注意を払った。そのため、オイル相の総容量が連続相よりも少なくなる条件を選択した。具体的には、2 g の API-T を晶析装置に仕込み、14.1 g のアセトンに 20 °C で溶解した。その後、20 °C に予め調製した 14.1 g の水を溶液に加えオイルアウトさせた。同条件における初期仕込み時の過飽和比は 4.1 であり、攪拌速度は 50~200 rpm の範囲で行った。

両相の組成分析は以下のように行った。オイル、連続両相を含むサンプルを核発生前の溶液から採取し、遠心分離により両相を分離し、各相の重量を測定した。各相の API-T 濃度とアセトン溶媒組成は HPLC とガスクロマトグラフ (GC), GC-2014 (島津製作所) で測定し、水組成は物質収支より計算した。

比較実験として、2 g の API-T をアセトン 14.9 g に加え 20 °C で溶解し、水 13.3 g を加えることで、オイルアウトしない单相の条件において晶析を実施した。同条件におけるアセトン溶媒組成は 53 wt% であり、初期過飽和比は 2.5 であった。

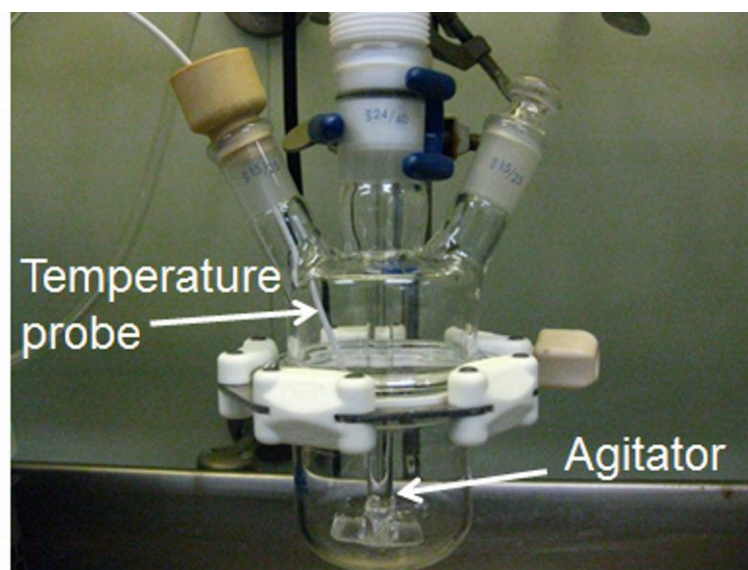


Figure 3–2. Crystallizer equipped with three retreat curve agitator and temperature probe.

3.2.4 オイル滴径と結晶粒子径の測定

オイルアウト晶析の溶液から採取された液滴をスライドグラスに移し、デジタルカメラを備えた顕微鏡 VHX-600(キーエンス)で、核発生前のオイル滴を速やかに観測した。その後、保存した画像から、各サンプルにおいて 400 個以上のオイル滴の径を測定した。個数基準の平均径を滴の代表径とした。

実験開始から 8 時間後の結晶も同様に顕微鏡で観測した。板状結晶の縦、横長さを 600 個以上の結晶に対して測定した。測定された径を球換算相当径に変換するために、代表的な厚みの縦に対する比を電子顕微鏡 VE-9800(キーエンス)による結晶の観測から求めた。結晶の代表径として重量基準の平均径を用いた。

3.3 結果と考察

3.3.1 オイルアウト現象

オイルアウト現象は Figure 3-3 に示すように、化合物を水・有機溶媒混合溶媒に溶解した澄明な溶液を冷却する時にまれに生じる現象であり、ある温度以下になった時に特に攪拌下において、溶液が白濁する状態を指す。この濁った状態では結晶は析出しておらず、静置させると2相に分離し、各相は澄明の状態となっている。ここで上相は連続相であり、下相はオイル相である。白濁した液を再度昇温すると、冷却時に濁った時の温度と同じ温度において、再び液が澄明に戻る。これがオイルアウトの特徴であり、濁った時の温度は曇点として定義されている。曇点は、化合物溶液濃度や溶媒組成によって変わるため、各組成において曇点を実験的に求めることで相図が得られる。

各相はそれぞれ組成が異なり、オイル相における化合物濃度は連続相における濃度よりも高くなり、溶媒組成もそれぞれ異なる。また液液相分離後の各組成はオイル化直前の単相時の化合物濃度と溶媒組成とも異なる。オイル相と連続相の体積比率はオイルアウトする前の組成に依存するが、オイル相の体積比率が少ない場合には、攪拌下においてオイル相の合一は起こりにくくオイル相は液滴として存在する。このように、単相の溶液とはいくつもの部分で異なっているため、オイルアウト晶析において確認すべきことは多く、また現象の理解のために相図の取得は特に重要である。

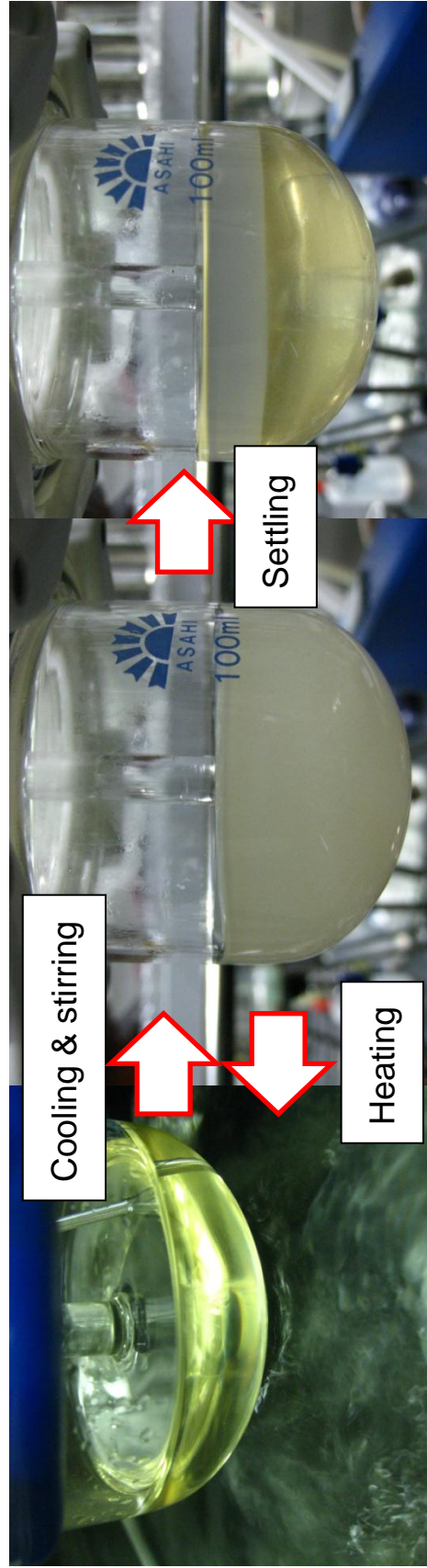


Figure 3-3. A single-phase crystallization solution of API-T dissolved in acetone/water (left), an oiling out crystallization solution under mixing condition (center) and an oiling out crystallization solution at static condition (right): continuous phase (top) and oil phase (bottom).

3.3.2 相図

Figure 3-4 (a)にアセトン溶媒組成 50 wt%における API-T の溶解度曲線と曇点を示した。また、Figure 3-4 (b)に 20 °Cにおける API-T の溶解度曲線と曇点をアセトン溶媒組成に対して示した。曇点は溶解度よりも高い濃度となっている。ここで、Figure 3-4 に示す領域 I は溶解度曲線よりも濃度が低い領域であるため、未飽和であり単相の領域である。領域 II は過飽和であり単相である領域、領域 III は過飽和であり曇点よりも高い濃度領域であるため、液液相分離が起こっている領域、即ち 2 相の領域である。ある濃度において溶液を冷却した時に、過飽和でありかつ曇点を超えない領域、つまり領域 II であれば、種晶を添加することでオイルアウトせずに結晶化することができる。本実験条件下においては、温度が低温側であるか、またはアセトン溶媒組成が高い方が領域 II の範囲が広がるため、オイルアウトを回避するためには、そのような操作条件を選ぶ方が好ましいともいえる。このように相図を取得することで、どの領域で操作するとオイルアウト晶析を利用できるか、あるいは回避できるかという判断が可能となるため非常に有益である。

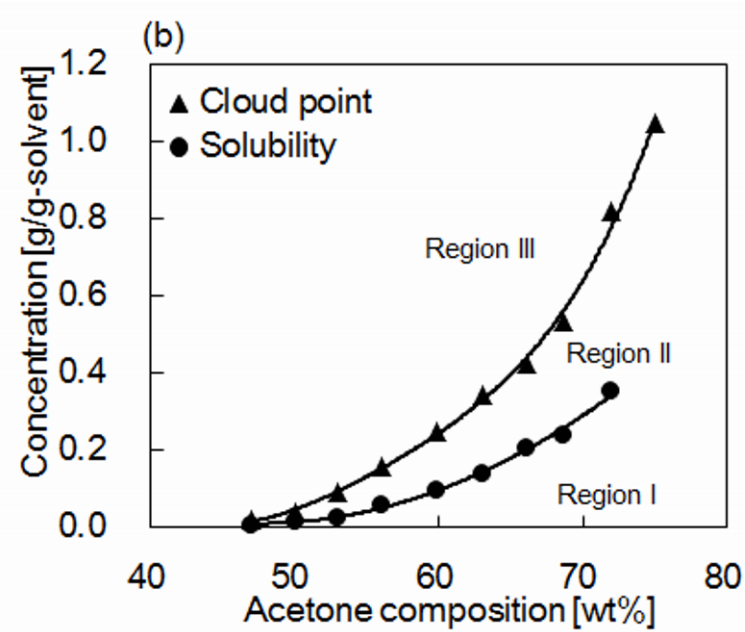
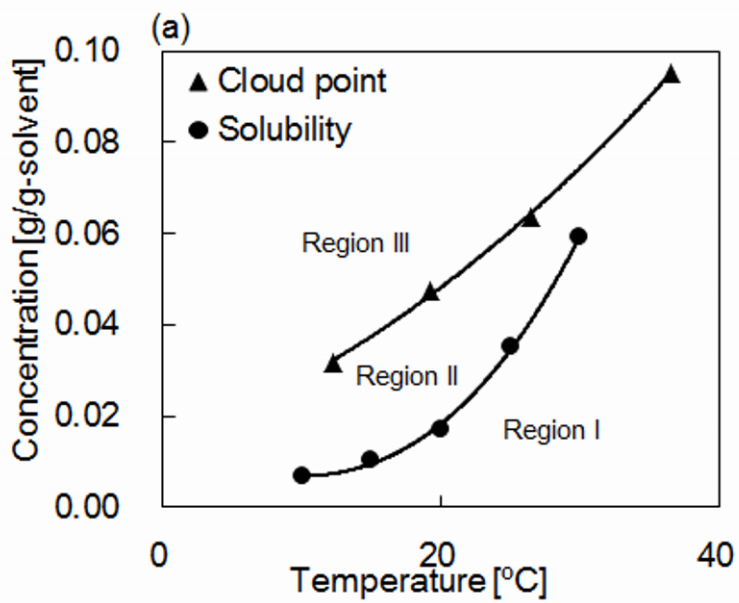


Figure 3–4. Solubility and cloud points of API-T: (a) data for different temperature in a mixed solvent of 50 wt% acetone and (b) data for different acetone composition at 20 °C. Solution is unsaturated in Region I, saturated with single phase in Region II and saturated with two phases in Region III.

3.3.3 オイル相と連続相の組成

Figure 3-3 で示したように、オイルアウトが起こった液を静置させると2相に分離する。液液相分離後の各相の液重量を測定し、各相について API-T 濃度とアセトン溶媒組成を測定した (Table 3-1)。全体の液重量のうち9割が連続相となっており、オイル相は1割ほどしか存在していない。しかしながら、オイル相には API-T の6割以上が分配されている。従って、オイル相は API-T 濃度が非常に高い相となっており、反対に連続相は初期 API-T 濃度よりも低い濃度になっている。アセトン溶媒組成も各相において異なっており、連続相は初期アセトン溶媒組成よりも低くなっており、オイル相では非常に高いアセトン溶媒組成へと変化している。アセトン溶媒組成が高くなるにつれ API-T の溶解度も高くなるため、API-T 濃度の非常に高いオイル相と濃度の低い連続相は、この実験条件下においては、過飽和比は同等になっていることがわかる。

Table 3–1. Composition of the two phases in oiling out crystallization.

Phase	Weight [g]	API-T concentration [g/g-solvent]	API-T distribution [wt%]	Acetone composition [wt%]	Solubility* [g/g-solvent]	Supersaturation ratio [-]
Continuous	27.1	0.028	36.8	48.5	0.013	2.2
Oil	3.11	0.68	63.2	70.8	0.32	2.2
Total charge	30.2	0.070	100	50.0	0.017	4.1

*The solubility curve is presented in Figure 3–4.

3.3.4 オイル滴径と結晶粒子径との関係

Table 3-1 で示したように、オイル相の液重量は全体の 1 割ほどしかないため、攪拌条件下ではオイルは液滴として存在する。オイル滴は攪拌速度の影響を受けると考えられたため、異なる攪拌速度に対する液滴径の関係を調べた。各相はそれぞれ過飽和であり、攪拌を継続すると自然核発生が起こるため、自然核発生が起こる前に液をサンプリングして液滴径を計測した。Figure 3-5 に示すように、攪拌速度 75 rpm におけるオイル滴は、200 rpm よりも大きくなっている。つまり、オイル滴径が攪拌速度に影響を受けていることを示している。Figure 3-6 より、オイル滴径は攪拌速度の増大と共に減少することがわかる。攪拌条件下では、オイル滴は破碎と融合が同時に起こっており、攪拌速度を増大させるとオイル滴の破碎が多く起こり、オイル滴径は小さくなる。Figure 3-6 から攪拌速度によってオイル滴径を制御できることがわかった。

液液相分離した後、攪拌を継続すると自然核発生が起こり結晶化が進行する。結晶化が終了し溶解度に達した時点で結晶を取得し、顕微鏡にて観察し、結晶粒子径を測定した。Figure 3-7 は攪拌速度 75 rpm と 200 rpm で実施した時に得られた結晶の顕微鏡写真を示す。Figure 3-7 から 75 rpm で得られた結晶は 200 rpm で得られた結晶よりも小さいことがわかる。Figure 3-8 に攪拌速度と得られた結晶粒子径の関係を示した。結晶粒子径は攪拌速度の増大に伴って増大していることがわかる。Figure 3-9 に晶析初期に測定されたオイル滴径とその後得られた結晶粒子径の関係を示した。オイル滴径が小さくなればなるほど、結晶粒子径が大きくなることがわかる。攪拌速度が粒子径に与える影響は、液液相分離していない単相の晶析実験(アセトン溶媒組成 53 wt%)においても確認した。Figure 3-8 に示したように、単相の晶析では攪拌速度の変化によって粒子径は変わらなかった。従ってオイルアウトすることで、単相の晶析では見られない結晶化機構が存在し、攪拌速度が何らかの形で影響を与えていると考えられる。

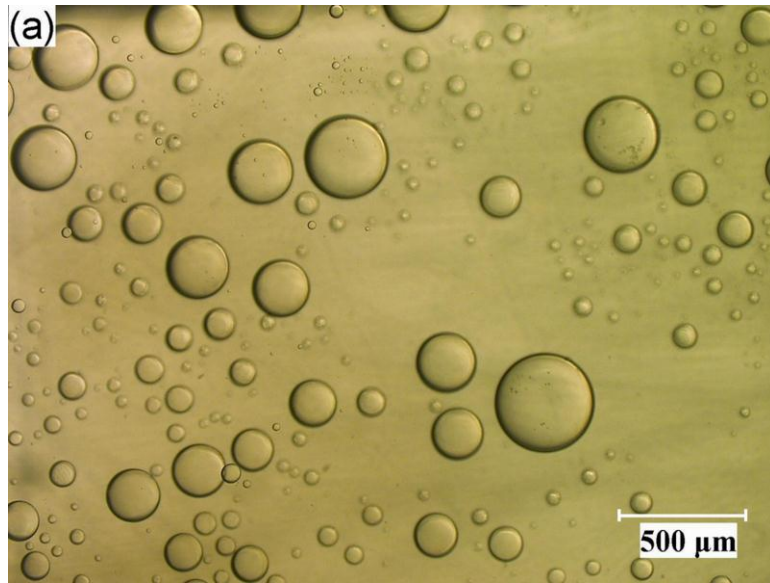


Figure 3–5. Micrographs of oil droplets obtained before nucleation occurred at (a) 75 rpm (coefficient of variation: 1.21) and (b) 200 rpm (coefficient of variation: 0.93).

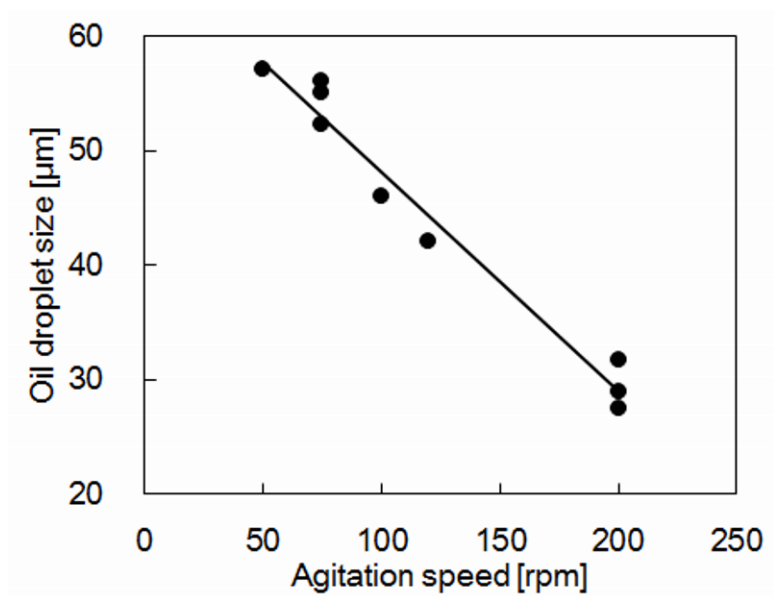


Figure 3–6. Effect of agitation speed on oil droplet size in the oiling out crystallization.

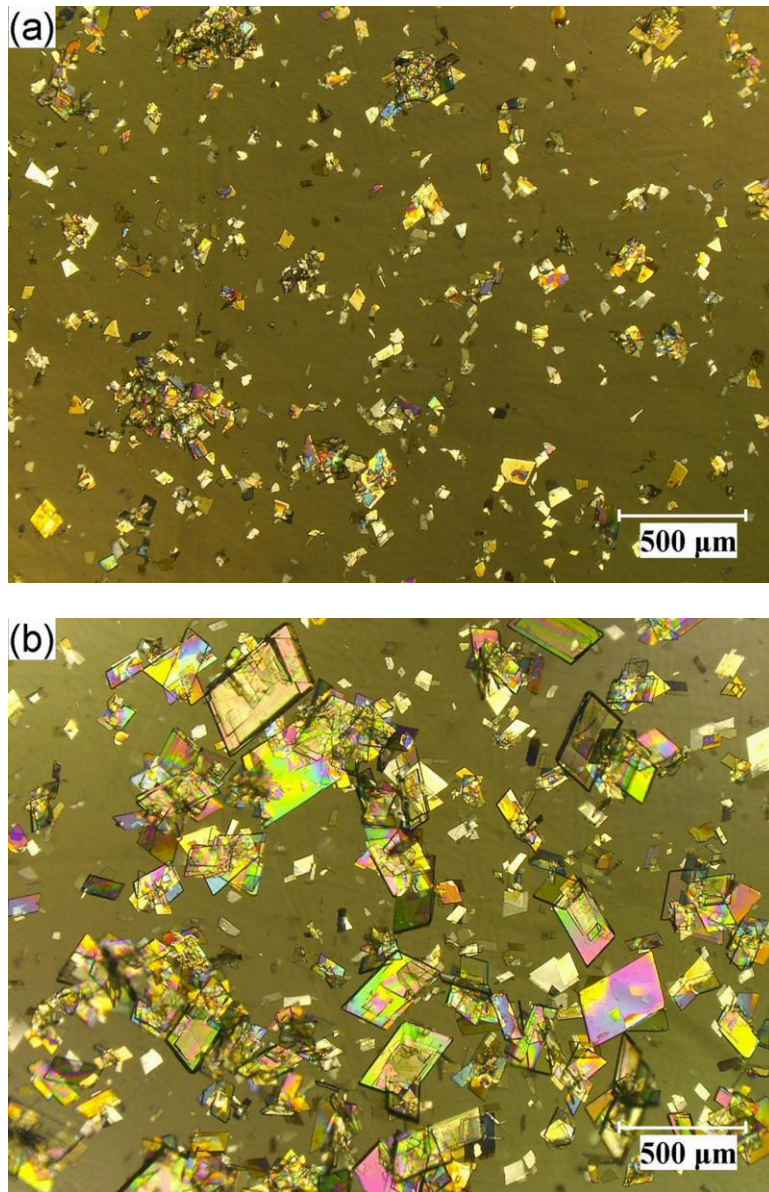


Figure 3–7. Micrographs of crystals obtained from the oiling out crystallization at (a) 75 rpm (coefficient of variation: 0.44) and (b) 200 rpm (coefficient of variation: 0.37).

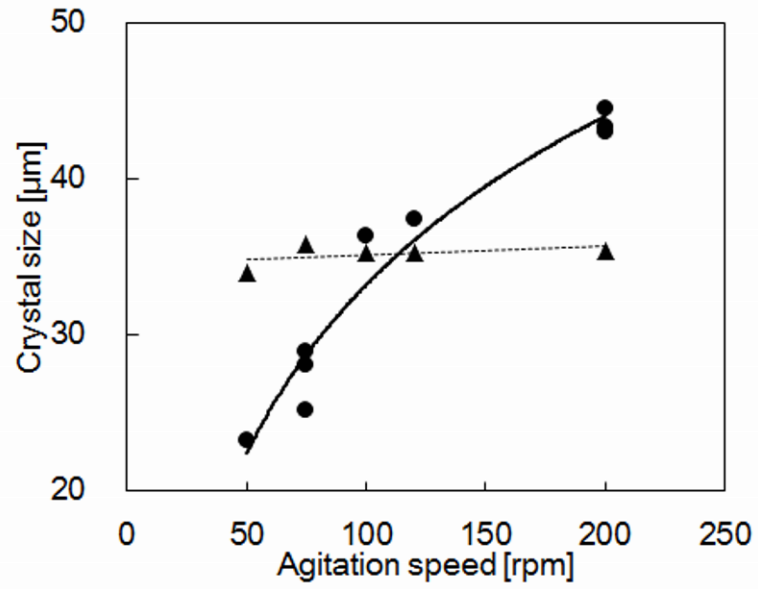


Figure 3–8. Effect of agitation speed on crystal size, for the oiling out crystallization (filled circle) and single-phase crystallization (triangle).

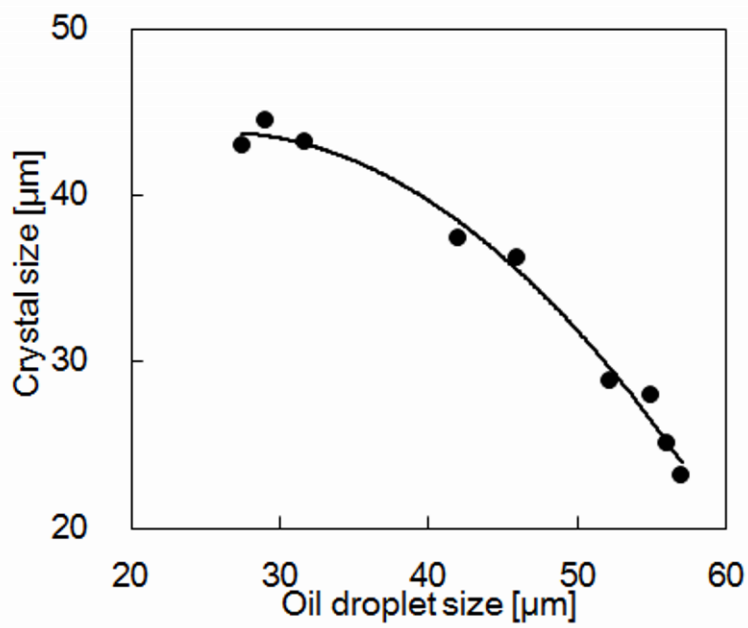


Figure 3–9. Relationship of the initial size of oil droplets and the size of crystals finally obtained.

3.3.5 顕微鏡による核発生と結晶成長の観察

Figure 3-10 に液液相分離時に晶析液からサンプリングし、核発生と結晶成長をスライドグラス上で観測した様子を示した。Figure 3-10 (a)には大きな結晶がオイル滴に接触している様子を示した。スライドグラス上で観察すると結晶がオイル滴を吸収していく様子が見られた。Figure 3-10 (b)にその 5 分後の状態を示す。結晶がオイル中の API-T を消費し、オイル滴が小さくなる様子を示している。この過程でアセトンがオイル滴から連続相に移動していると考えられる。Figure 3-10 (c)は、小さな結晶がオイル滴内に存在している様子を示している。オイル滴が消失し、結晶が外に現れている様子を Figure 3-10 (d)に示す。この時、オイル滴内においては、他に結晶が見られないことから結晶がオイル中の API-T を消費し成長したと考えられる。これらは実験中の攪拌条件下ではなく、スライドグラス上での観測にすぎないが、オイル滴は滴内にある結晶の成長によっても、また滴外部に接触する結晶の成長によっても消費されることを示唆している。

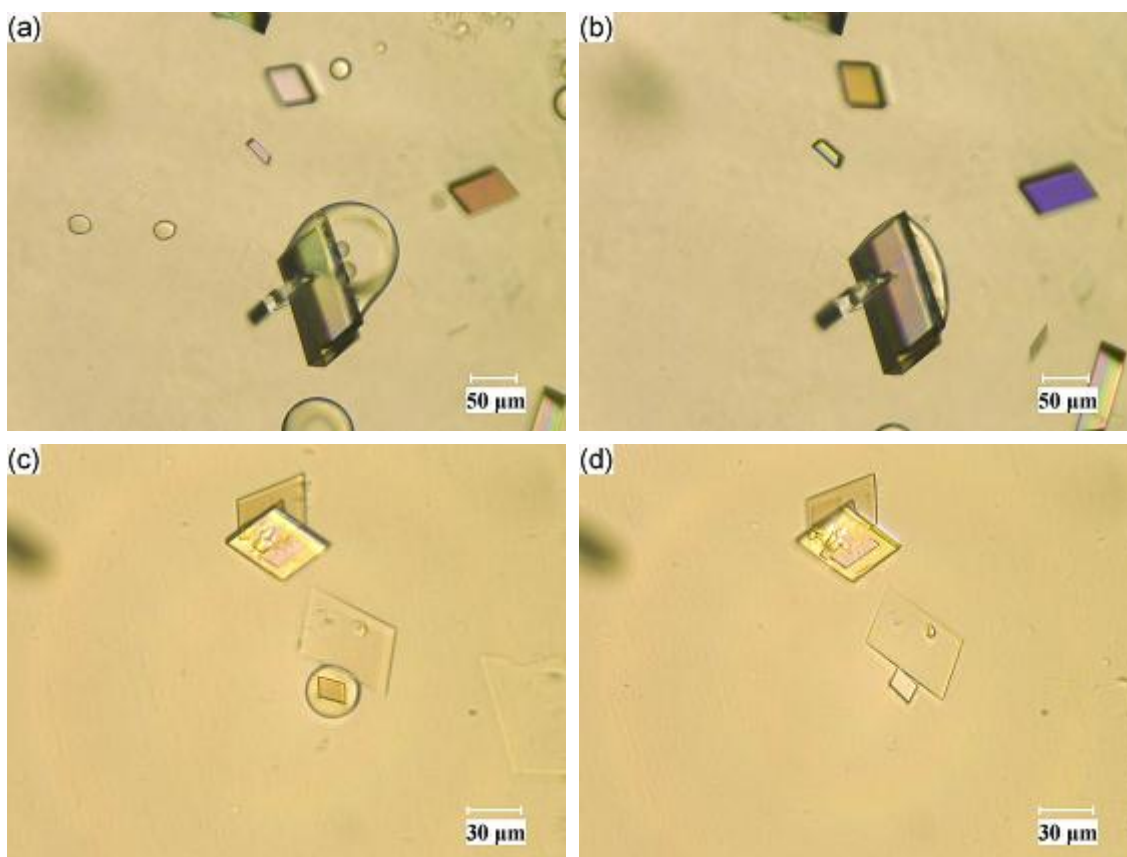


Figure 3–10. Micrographs of crystals and oil droplets observed on a slide glass: (a) A crystal contacting an oil droplet and (b) its change at 5 min later. (c) A crystal growing inside an oil droplet and (d) its change at 1 min later.

3.3.6 粗大及び微小結晶の生成機構

Figure 3–9 に示したオイル滴径と結晶粒子径の関係を理解するために、オイルアウト晶析中の液をサンプリングし、顕微鏡で観察した。Figure 3–11 (a)に 75 rpm で実施された実験における実験開始から 7 分後の様子を示す。オイル滴の中に多数の微結晶を含んでいることがわかる。Figure 3–11 (b)に同実験における 15 分後の様子を示した。大きいオイル滴は小さいオイル滴より多く結晶を含んでおり、さらに小さいオイル滴には結晶が含まれていないことがわかった。定量的に関係を調べるために、1 つ以上の結晶を含むオイル滴の個数を顕微鏡の画像データから計測し、オイル滴の総数に対する割合を求めた。攪拌速度を変えることでオイル滴径

を変え、その異なるオイル滴径に対して同割合をまとめた。Figure 3-12 (a)は1つ以上の結晶を含むオイル滴の全体数に対する割合をオイル滴径に対して示したものである。また同割合を経過時間に対して示した図を Figure 3-12 (b)に示した。結晶を含むオイル滴の割合は、オイル滴径の増大、また時間経過と共に増大した。例えば、結晶を含むオイル滴の割合は、実験開始から7分後において、100~200 μm の範囲のオイル滴では72%であるのに対して、20~40 μm では7%にすぎず、20 μm 以下では、15分以内での核発生は見られなかった。Figure 3-12 (b)に示されるように結晶を含むオイル滴の割合が実験開始から7分後まで急激に上昇した後、上昇速度が緩やかになるのは、結晶成長によるオイル滴の消失によるものと考えられる。これらの結果から、1次核発生は大きいオイル滴で起こりやすいといえる。同様の現象が水溶液からのポリマーのコロイド晶析において報告されている¹⁶。シリコンオイル中にポリN-イソプロピルアクリルアミド水溶液を液滴として分散させ、液滴中の1次核発生頻度を測定している。液滴径が小さくなると、核発生速度が減少するという結果が得られている。大きい滴では、核発生の方が大きいゆえに1次核が発生する頻度が高くなるといえる。またパラセタモル (paracetamol) の冷却晶析において、1 cm^3 ほどの小さい晶析装置では、準安定域が装置サイズに依存し、実験ごとにばらついたことが報告されている¹⁷。その結果は、核発生頻度が液容積に影響を受けていることを示している。

一度、液滴内で1次核発生が起こったら、2次核発生も同じ滴内で起こりうる。オイル相における晶析をさらに理解するために、Table 3-1に示したオイル相と同じ組成(API-T:12.3 g、アセトン:12.7 g、水:5.2 g)で単相の実験を行った。実験は、API-Tのアセトン溶液に20 $^{\circ}\text{C}$ で水を添加して200 rpmの攪拌速度で実施した。その実験で得られた結晶の粒子径はFigure 3-13で示すように、Figure 3-7 (a)で示した結晶と同様に微小なものであった。つまりFigure 3-7 (a)に示した微結晶は、Figure 3-11 (a)にも見られるように、大きいオイル滴内における2次核発生によって生成したものと考えられる。ここで、攪拌されていないオイル滴内において2次核発生が起こりうるかという点について疑問が残るが、液液2相流れの系において、滴内には流れがあることが報告されており^{18,19}、滴内の2次核発生が内部流によって誘発されていると考

えるのは妥当である。さらに流れのない溶液において、存在する結晶の成長によって生じる物質の拡散によって起こる2次核発生の機構が提案されている^{16,20,21}。その機構によると、例えオイル滴内で対流がなくても、オイル滴内の2次核発生は、1次核発生によって生成した結晶へのAPI-T分子の拡散によって誘発される。

これらの結果と議論から、小さい結晶は大きいオイル滴内における2次核発生によって析出してきたといえる。反対にFigure 3-7 (b)に示される大きい結晶は、オイル滴が小さい時に生成した結晶であり、その機構は次のように説明できる。小さいオイル滴の場合、内部の1次核発生によって生成した結晶は、内部の容量が小さいため2次核発生を多量に誘発することなく、Figure 3-10 (c), (d)で見られるように連続相へ放出され、Figure 3-10 (a), (b)で見られるように核発生せずに残っている小さい滴を吸収して成長する。また小さいオイル滴内では核発生しにくいために、放出される結晶の数は少ない。結果として、物質収支より小さいオイル滴で生成した結晶は大きいサイズへと成長する。これが、オイル滴径が小さい時に大きな結晶が得られる理由である。

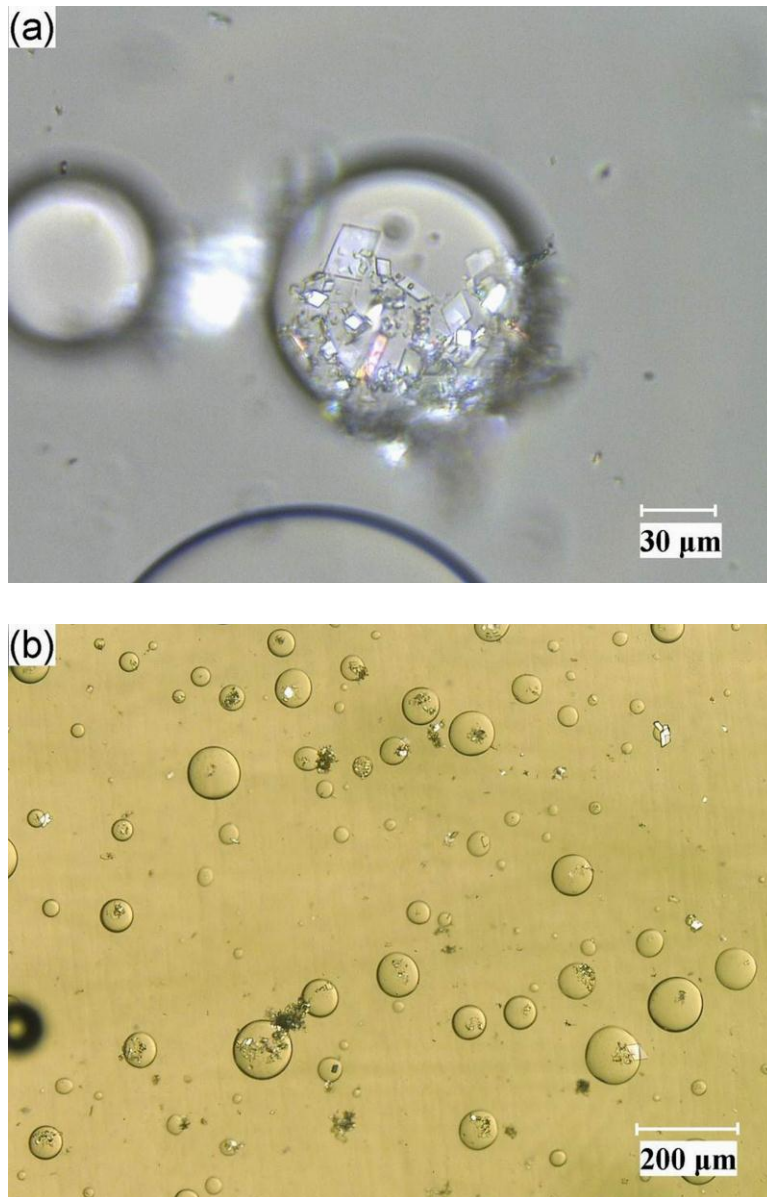


Figure 3–11. Micrographs of oil droplets observed during the oiling out crystallization at 75 rpm: large oil droplets containing many fine crystals after (a) 7 min and (b) 15 min.

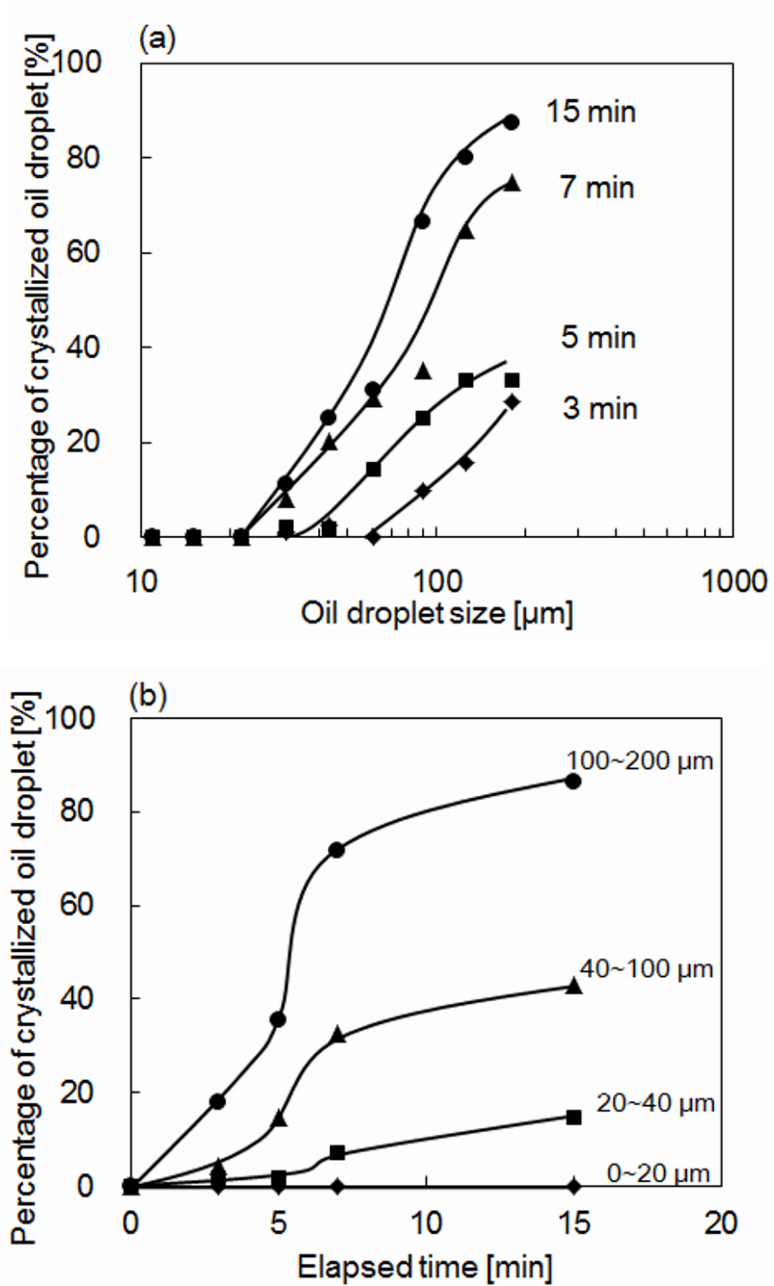


Figure 3-12. Percentage of the oil droplets containing at least one crystal against (a) oil droplet size for different elapsed times, and (b) elapsed time for different ranges of oil droplet size.

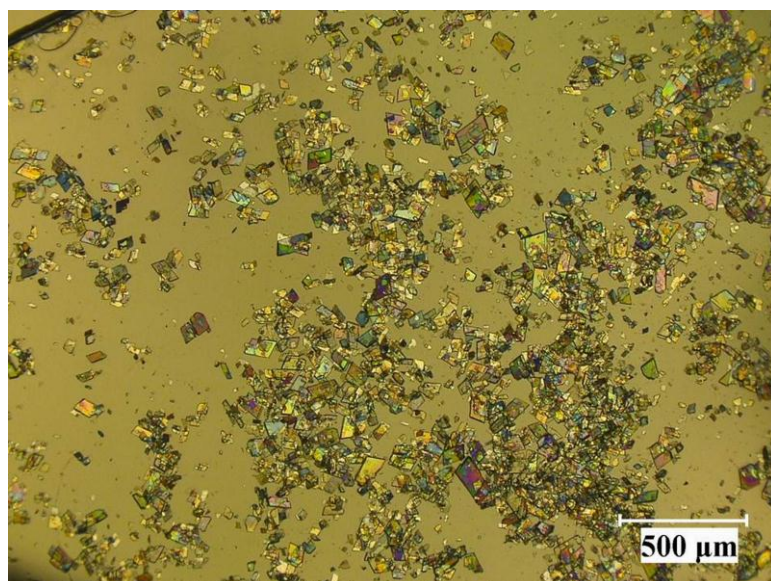


Figure 3–13. Micrograph of crystals obtained in the single-phase crystallization at 200 rpm from an API-T solution having the same composition as that of the oil phase shown in Table 3–1.

3.3.7 オイルアウト晶析における結晶の粒度制御

一般的にオイルアウト晶析は、晶析槽内のスケーリングや核発生の制御が困難であることから、工業的には好まれない操作として認識されている。しかしながら、本章においてはオイルアウト晶析は Figure 3–8 に示すように、単相の晶析では得られないことのない粒子径範囲の結晶が得られることを示した。Figure 3–14 にオイル滴径を変えた3つの異なる結晶粒度分布を示した。オイル滴径を小さくすることで、2次核発生を抑制することができ、結果として得られる結晶を大きくすることができる。晶析工程の後工程のろ過速度を向上させるためには、大きな結晶が望ましく、オイル滴を小さくすることで得ることが可能である。オイル滴の制御は攪拌速度を変えることによって成しえるため、過飽和比に依存しない方法によって核発生を制御できたいえる。

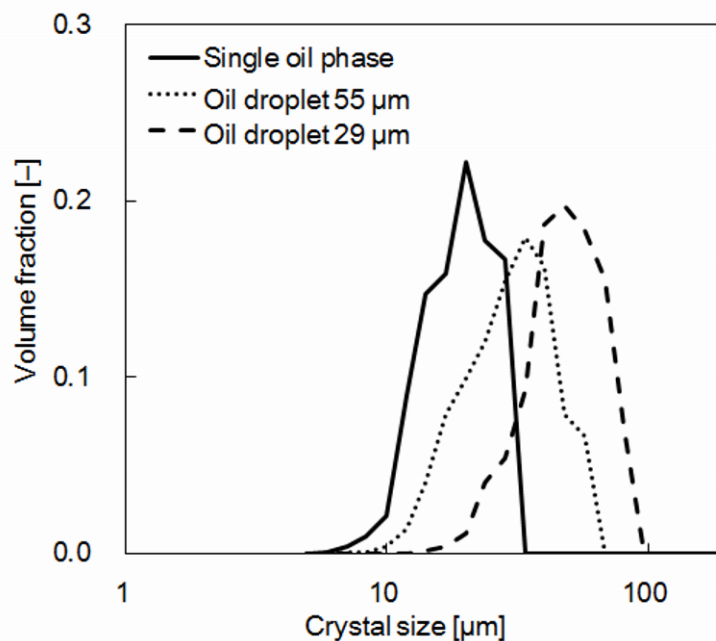


Figure 3-14. Comparison of the crystal size distribution for crystals obtained from the single oil phase crystallization at 200 rpm and shown in Figure 3-13, the oiling out crystallization at 75 rpm with 55 μm of average size of oil droplets and shown in Figure 3-7 (a), and the oiling out crystallization at 200 rpm with 29 μm of average size of oil droplets and shown in Figure 3-7 (b).

3.4 結言

医薬品原薬 API-T のアセトン/水系におけるオイルアウト晶析実験を実施し、溶解度曲線と曇点を溶媒組成と温度に対してもとめた。オイル相には API-T の 6 割以上が分配されているが、オイル相の質量は総液量の 1 割程度しかないことがわかった。最終的に得られた結晶の粒子径はオイル滴径に反比例しており、オイル滴径が少なくとも 27 から 57 μm の範囲では大きくなればなるほど、得られる結晶は小さくなった。微結晶の生成は、オイル滴径の増大に伴って 1 次核発生と 2 次核発生が増加することに起因していた。大きな結晶の生成理由として、抑制された核発生においてわずかに存在する少量の結晶が他の残存するオイル滴を吸収して成長することに起因することがわかった。以上から、オイル滴を小さくすることで同じ過飽和比条件下においても 2 次核発生を抑制することができ、ろ過速度向上にメリットのある大きな結晶の取得が可能となった。

引用文献

- (1) Gliko, O.; Neumaier, N.; Pan, W.; Haase, I.; Fischer, M.; Bacher, A.; Weinkauff, S.; Vekilov, P. G., "A metastable prerequisite for the growth of Lumazine synthase crystals", *J. Am. Chem. Soc.* 2005, *127*, 3433–3438.
- (2) Lu, J.; Carpenter, K.; Li, R.; Wang, X.; Ching, C., "Cloud-point temperature and liquid–liquid phase separation of supersaturated lysozyme solution", *Biophys. Chem.* 2004, *109* (1), 105–112.
- (3) Berland, C. R.; Thurston, G. M.; Kondo, M.; Broide, M. L.; Pande, J.; Ogun, O.; Benedek, G. B., "Solid-liquid phase boundaries of lens protein solutions", *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1992, *89*, 1214–1218.
- (4) Thomson, J. A.; Schurtenberger, P.; Thurston, G. M.; Benedek, G. B., "Binary liquid phase separation and critical phenomena in a protein/water solution", *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1987, *84*, 7079–7083.
- (5) Lai, S. M.; Yuen, M. Y.; Siu, L. K. S.; Ng, K. M.; Wibowo, C., "Experimental determination of solid-liquid-liquid equilibrium phase diagrams", *AIChE J.* 2007, *53* (6), 1608–1619.
- (6) Lafferrere, L.; Hoff, C.; Veessler, S., "Study of liquid–liquid demixing from drug solution", *J. Cryst. Growth* 2004, *269*, 550–557.
- (7) Lafferrere, L.; Hoff, C.; Veessler, S., "Polymorphism and liquid-liquid demixing in supersaturated drug solution", *Eng. Life Sci.* 2003, *3*, 127–131.
- (8) Groen, H.; Roberts, K. J., "Nucleation, growth, and pseudo-polymorphic behavior of citric acid as monitored in situ by attenuated total reflection fourier transform infrared spectroscopy", *J. Phys. Chem. B* 2001, *105*, 10723–10730.

- (9) Lu, J.; Li, Y.; Wang, J.; Ren, G.; Rohani, S.; Ching, C., "Crystallization of an active pharmaceutical ingredient that oils out", *Sep. Purif. Technol.* 2012, *96*, 1–6.
- (10) Duffy, D.; Cremin, N.; Napier, M.; Robinson, S.; Barrett, M.; Hao, H.; Glennon, B., "In situ monitoring, control and optimization of a liquid–liquid phase separation crystallization", *Chem. Eng. Sci.* 2012, *77*, 112–121.
- (11) Bonnett, P. E.; Carpenter, K. J.; Dawson, S.; Davey, R. J., "Solution crystallisation via a submerged liquid–liquid phase boundary: oiling out", *Chem. Commun.* 2003, 698–699.
- (12) Deneau, E.; Steele, G., "An in-line study of oiling out and crystallization", *Org. Process Res. Dev.* 2005, *9*, 943–950.
- (13) Veessler, S.; Lafferrere, L.; Garcia, E.; Hoff, C., "Phase transitions in supersaturated drug solution", *Org. Process Res. Dev.* 2003, *7*, 983–989.
- (14) Derdour, L., "A method to crystallize substances that oil out", *Chem. Eng. Res. Des.* 2010, *88*, 1174–1181.
- (15) Veessler, S.; Revalor, E.; Bottini, O.; Hoff, C., "Crystallization in the presence of a liquid-liquid phase separation", *Org. Process Res. Dev.* 2006, *10*, 841–845.
- (16) Gong, T.; Shen, J.; Hu, Z.; Marquez, M.; Cheng, Z., "Nucleation rate measurement of colloidal crystallization using microfluidic emulsion droplets", *Langmuir* 2007, *23*, 2919–2923.
- (17) Kadam, S. S.; Kramer, H. J. M.; ter Horst, J. H., "Combination of a single primary nucleation event and secondary nucleation in crystallization processes", *Cryst. Growth* 2011, *11*, 1271–1277.

- (18) Yamamoto, Y.; Yamauchi, M.; Uemura, T., "Numerical simulation of a contaminated water drop sinking in an oil by a front-tracking method", *J. Comput. Sci. Tech.* 2008, 2, 246–257.
- (19) Yamauchi, M.; Uemura, T.; Ozawa, M., "PTV measurement at close region to interface of a water drop in oil", *Japanese J. Multiphase Flow* 2000, 14, 466–472.
- (20) Denk, E. G.; Botsaris, G. D., "Fundamental studies in secondary nucleation from solution", *J. Cryst. Growth* 1972, 13-14, 493–499.
- (21) Ooshima, H.; Igarashi, K.; Iwasa, H.; Yamamoto, R., "Structure of supersaturated solution and crystal nucleation induced by diffusion", *J. Cryst. Growth* 2013, 373, 2–6.

第4章

オイルアウト晶析における溶媒組成による 結晶粒子径とアスペクト比の制御

4.1 緒言

医薬品原薬の晶析においては、体内への吸収を高めるために結晶の微粒子化が必要である。しかし結晶製造後に粉碎を行う場合は、必要とされる結晶の粒子径にも依るが必ずしも晶析工程における微粒子化が必要ではない。また主原料から化学合成される中間体の過程においては、医薬品原薬と異なり小さな結晶よりも大きな結晶が望ましいことが多い。晶析工程で小さな結晶が析出すると、特にスケールアップ製造においては後工程のろ過時間や乾燥時間が非常に長くかかるため¹、生産性の低下や純度低下といった問題が生じており、医薬品原薬製造工程におけるトラブルの主要な項目として挙げられている²。第1章で記載したように、粗大結晶は準安定域において種晶を利用することで結晶成長を促すことによって得られる場合がある。種晶の量や種結晶の粒子径によって、得られる結晶の粒子径が変わり、核発生を抑制して種晶の成長のみを促すためには十分な量(場合によっては数十%)の種晶が必要とされており、シードチャートによってその関係が示されている³。種晶を用いた粒度制御法は有用であるものの、医薬品製造においてはその管理が非常に煩雑である。例えば種晶の粒子径が得られる結晶の粒子径に影響を与えるため、種晶の粒子径自体も制御する必要があるが、初回の実機製造においては、品質が確保された種晶が得られない場合には、このような制御ができていないことになる。このような問題点を克服するために装置面の改良による結晶化事例も報告されており、ウォールウェッターと呼ばれる晶析装置を用いて、晶析液の微結晶を装置内部で一部溶解することで結晶の粒子径を大きくすることが可能である⁴。

結晶粒子径と同様に、晶癖も医薬品の有効性や生産効率を考える上で重要な役割を果たしている。例えば、球形に近い大きな結晶は、ろ過性には非常に理想的とされており、微小な針状結晶は逆にろ過速度を遅くする¹。混合溶媒を使用する際は、晶癖は溶媒組成にも影響を受けることが知られている⁵。オイルアウト晶析に関して言えば、オイル相(液滴)と連続相の溶媒組成は異なり、相分離直前の初期組成に応じて変化する⁶⁻⁹。また各相における化合物の分配比率も初期溶媒組成によって変化し、得られる結晶粒子径に影響を与えると考えられる。そのため、各相がどのように粒子径や晶癖に影響を与えるかを把握する必要がある。

ところで、第 3 章緒言にて記載したようにオイルアウト晶析は、晶析槽の壁面や攪拌翼へのオイルの付着といったデメリットがあると考えられているため、避けられる傾向にある⁹⁻¹²。第 3 章では、オイル滴径を小さくすることで 2 次核発生を抑制し、より大きな結晶を得ることに成功した。これはオイルアウト晶析を有効利用した事例であり、オイルアウト晶析はメリットも期待できることを示したものである。オイルアウト晶析における結晶形態に関する論文は、いくつか報告されているが^{13,14}、それでも晶癖との関係性については不明瞭な部分が多い。本章では、オイルアウト晶析における各相の役割を定量的に評価し、溶媒組成が結晶粒子径やアスペクト比に与える影響を明らかにした。

4.2 実験

4.2.1 原料

本章における検討には武田薬品工業株式会社にて製造された医薬品原薬 API-T (0.5 水和物、純度 99.0 wt%) を用いた。試薬特級のアセトンと蒸留水は和光純薬工業株式会社製を用いた。

4.2.2 溶解度と曇点測定

API-T のアセトン水混合溶媒における溶解度測定は、前章と同様 5 つの試験管にそれぞれ温度制御ユニットとマグネティック攪拌子を備えたケミステーションTM (ChemiStation) (東京理化学器械) を用いて行い、温度は 20 °C とした。API-T の濃度は HPLC, LC-2010 (島津製作所) を用いて測定した (カラム: CAPCELL PAK C18 MGII (資生堂)、移動相: りん酸緩衝液 (pH 3.0) / アセトニトリル、波長: 230 nm)。

曇点の測定も同じくケミステーションを用いて行った。各アセトン溶媒組成において、所定濃度の API-T 溶液を調製し、液液相分離が起こる時点まで徐々に冷却した。液液相分離が起こった時の温度を、各アセトン溶媒組成に対する曇点とした。同様の実験を API-T 濃度 (0.014–1.05 g/g-solvent)、アセトン溶媒組成 (45–75 wt%) の範囲で行った。

4.2.3 晶析実験

実験は第3章と同じく3枚後退翼を備えた100 mLの3つ口半楕円底のガラス製晶析容器で行い、内部に温度センサーを設置し、恒温槽により容器内温を20 °Cに制御した。所定量のAPI-Tを晶析容器に仕込み、所定量のアセトンを追加し20 °Cで溶解させた。攪拌速度は200 rpmで行った。予め20 °Cに調製した水をAPI-T溶液へ添加することによって、溶液はオイルアウトし、その後自然核発生により結晶化した。結晶化した後も、各アセトン溶媒組成に対する溶解度に到達するまで攪拌を続けた。同じ初期API-T濃度(0.070 g/g-solvent)の実験をアセトン溶媒組成を変えて(Run 1: 47.0, Run 2: 50.0, Run 3: 50.5, Run 4: 51.0, Run 5: 51.5 wt%)行なった。

比較として、単相となる(オイルアウトしない)ようにAPI-T濃度(Run 6: 0.014, Run 7: 0.070, Run 8: 0.25, Run 9: 0.68 g/g-solvent)とアセトン溶媒組成(Run 6: 45.1, Run 7: 52.0, Run 8: 60.0, Run 9: 70.8 wt%)を調製し晶析実験を行った。

4.2.4 組成分析

核発生が起こる前、及び晶析中の晶析液(オイル相と連続相)のサンプルを晶析容器から均一性に注意しながら採取し、遠心分離により分液し、各相の重量を測定した。各相の化合物濃度はHPLCによって、アセトン溶媒組成はGC, GC-2014(島津製作所)で測定した。晶析中のオイル相の減少は晶析液の総重量に対するオイル相重量の比率で経時変化を追跡した。

4.2.5 結晶粒子径とアスペクト比の測定

API-T濃度が溶解度まで達した後で、結晶を光学顕微鏡VHX-600(キーエンス)により観測し、板状結晶であるAPI-Tの縦と横の長さを600個以上の結晶に対して測定した。球体積径を求めるために、結晶の厚みを電子顕微鏡VE-9800(キーエンス)で測定し、代表的な結晶の縦の長さに対する厚みの比率を得た。平均アスペクト比は、全個数に対する縦と横の長さの比率

として求めた。2 峰性分布の粒子径の小さい部分の全体に対する割合は、それぞれの結晶群の粒度分布が正規分布に従うとして求めた。オイル相消失後も連続相(均一相)で結晶の析出は続いたが、その状態で結晶化した API-T の割合は、オイルが消失した時の溶液濃度と溶解度から計算した。

4.2.6 結晶形の測定

結晶形の測定には、粉末 X 線回折装置 Ultima IV (リガク)を用いて、測定範囲 3~40°、走査速度 6°/min にて測定した。

4.3 結果と考察

4.3.1 相図

Figure 4-1 はアセトン水における API-T の溶解度と曇点であり、(a)は相分離後の連続相の組成、(b)はオイル相の組成を示している。相分離後の濃度はオイル相においても、連続相においても曇点曲線上の点と一致した。分離前の初期アセトン溶媒組成が減少するに従い、オイル相における API-T 濃度は上昇し、一方で連続相における API-T 濃度は減少した。この結果から、初期アセトン溶媒組成を変化させることで、オイル相および連続相のアセトン溶媒組成と API-T 濃度を変化させることが可能であることがわかった。

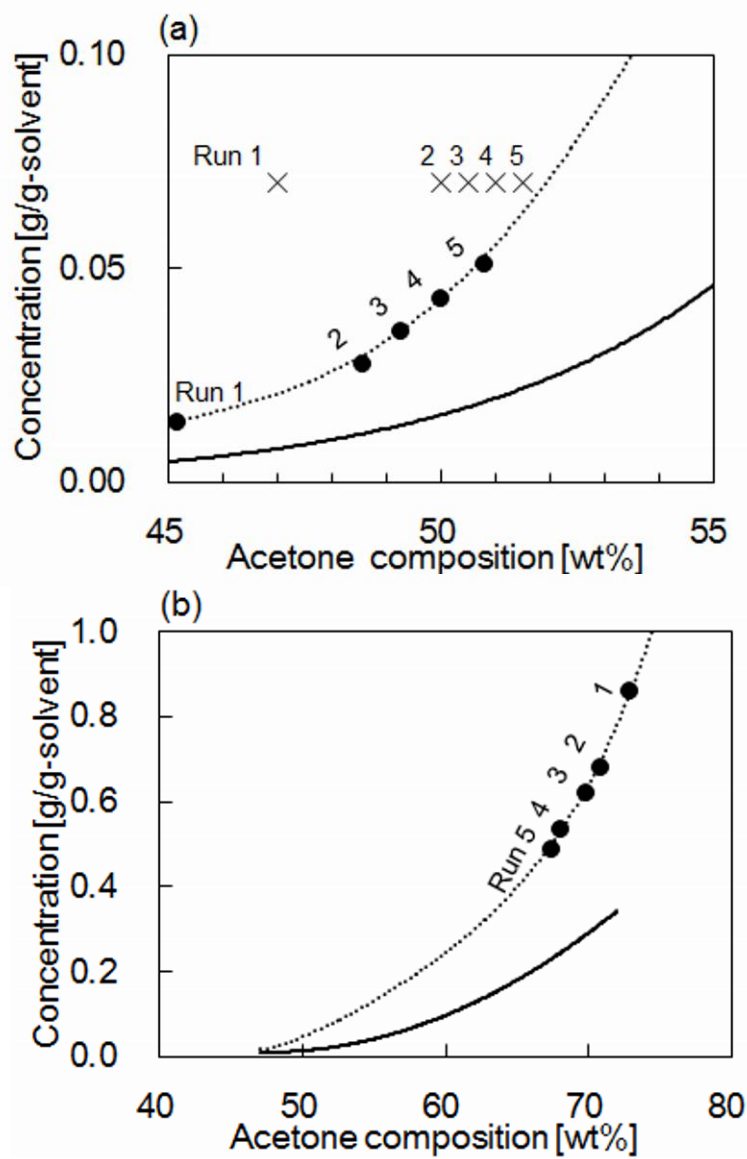


Figure 4–1. Solubility (solid line) and cloud points (dotted line) of API-T in acetone/water system at 20 °C, and (a) charged compositions (cross) and the compositions of the continuous phase (filled circle) after phase separation and (b) the compositions of the oil phase (filled circle).

4.3.2 濃度追跡

Figure 4-2 にオイルアウト晶析中の連続相における API-T 濃度とオイル相重量を追跡した結果を示した。相分離後 20 分まで連続相の濃度は安定しているが、オイル相重量は減少しているため、オイル相において結晶化が先に始まっていたと考えられる。連続相の濃度は 20～70 分までの間、一度減少した後で再び増加している。この現象は次のように説明できる。連続相では核発生と結晶成長が起こっているため、濃度が減少している。それらはオイル相で生成した結晶も部分的に影響していると考えられる。またオイル相での結晶生成に伴うオイル滴の消失に伴い、化合物分子と溶媒は連続相へと放出される。従って、Figure 4-2 に認められる連続相中の API-T 濃度の変動は連続相における結晶化速度と、オイル相からの化合物分子の連続相への放出速度のバランスによって生じていると考えられる。

アセトン溶媒組成に関しては、結晶化の進行に伴って、オイル相、連続相共に初期溶媒組成 (Run 2 では 50 wt%) に近づくはずである。オイル相が完全に消失して連続相のみになるまでは、両相の濃度は曇点に沿って変化することになる (Fig. 4-3)。

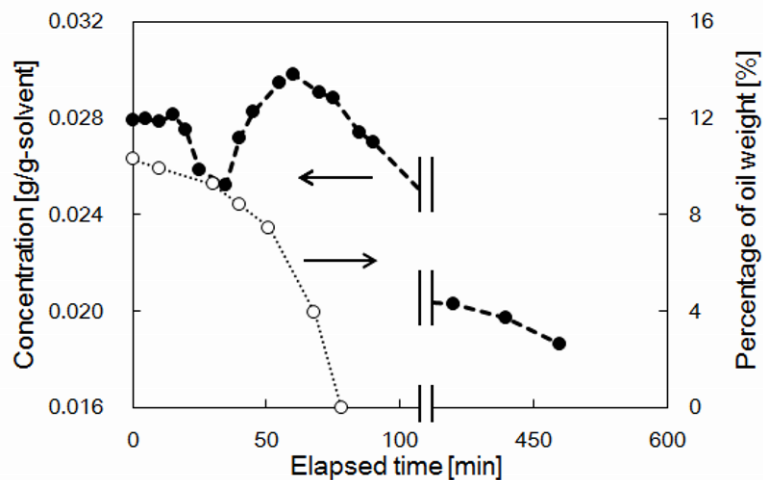


Figure 4-2. Trend of the API-T concentration in the continuous phase (filled circle) and the percentage of oil phase weight to the total weight of crystallization solution (open circle) during oiling out crystallization for Run 2.

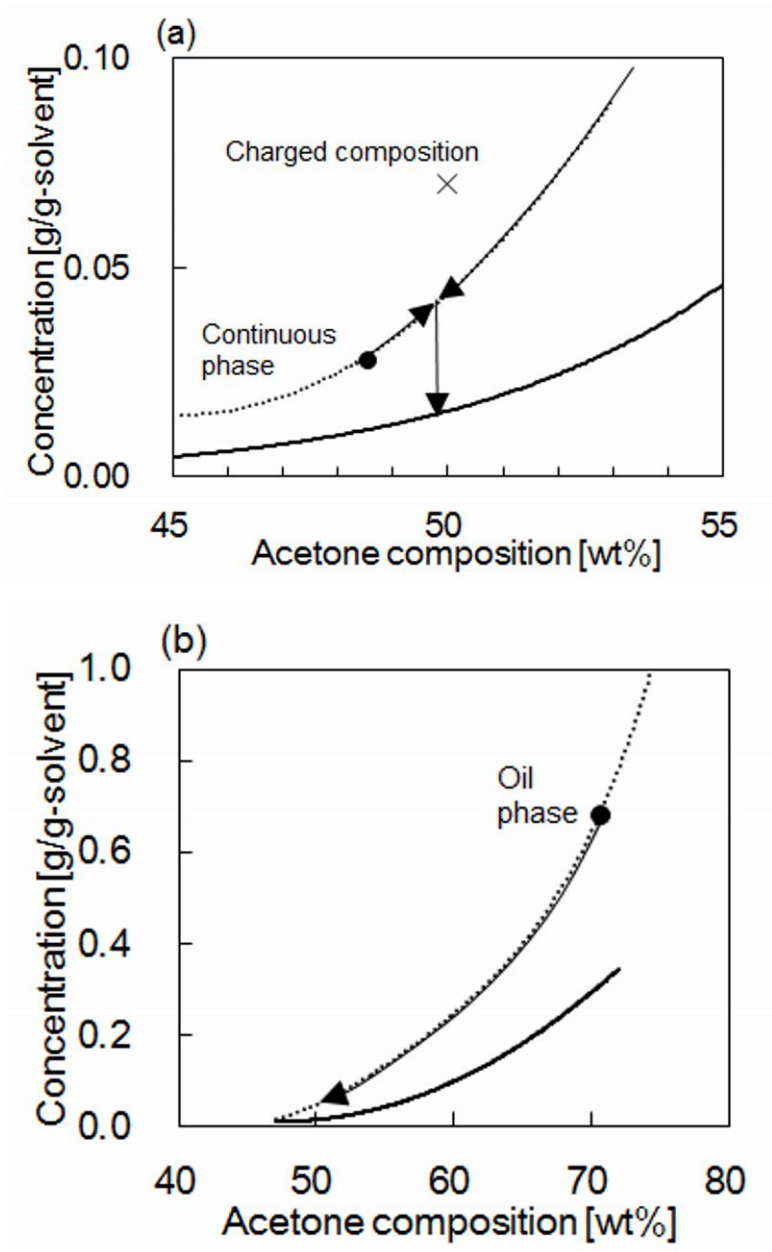


Figure 4-3. Assumed track of the API-T concentration for Run 2, supposing the crystallization in the continuous phase did not occur until the oil phase disappeared: (a) in the continuous phase and (b) in the oil phase.

4.3.3 オイルアウト晶析と単相晶析における結晶のアスペクト比の比較

Table 4-1 はオイルアウト晶析 (Run 1~5) と単相晶析 (Run 6~9) で得られた結晶の平均アスペクト比を整理したものである。オイルアウト晶析では、平均アスペクト比は初期アセトン溶媒組成の増大に伴い大きくなるが、単相晶析では逆に減少している。アスペクト比の変化は、結晶多形の生成による可能性も考えられることから得られた結晶の XRD 分析を行った結果、Figure 4-4 に示すようにアスペクト比の異なる結晶は全て同じ結晶形であることが確認できた。また Table 4-1 に示すように全ての実験において過飽和比に大きな差はなかったため、過飽和比の違いがアスペクト比に影響を与えているとは考えにくい。単相晶析の結果から、アセトン溶媒組成の増大は結晶のアスペクト比を小さくすることを示している。考えられる機構として以下に議論する。API-T は結晶格子中において長軸方向にカルボン酸基を含んでおり、アセトンと API-T の水酸基の間で水素結合を形成しうる。API-T は 0.5 水和物であるため、水分子との結合が必要であるが、アセトンと API-T 間の水素結合は水分子と API-T 間の水素結合を阻害する。結果として、結晶の長軸方向の成長が阻害されることとなる。これがアセトン溶媒組成の違いによってアスペクト比が変わる要因と考えられる。この機構によって Table 4-1 に示したオイルアウト晶析におけるアスペクト比の変化も説明することができる。Run 1 では 81.6 wt% の API-T がオイル相に分配されている。そのオイル相のアセトン溶媒組成は 72.9 wt% (Fig. 4-1 (b)) であり、単相晶析 Run 9 のアセトン溶媒組成 70.8 wt% に近い。つまり、Run 1 の結晶のアスペクト比が小さいのは、多くの API-T が分配されているオイル相のアセトン溶媒組成が高いことが理由である。一方 Run 5 では、連続相に 69.7 wt% もの API-T が分配されている。その連続相のアセトン溶媒組成は 50.8 wt% (Fig. 4-1 (a)) であり、Run 7 のアセトン溶媒組成に近い。そのため Run 7 と同様に、Run 5 ではアスペクト比が大きくなっている。このように、API-T のオイルアウト晶析におけるアスペクト比は、より多くの API-T が分配された相のアセトン溶媒組成に依存しているといえる。

Table 4-1. Average aspect ratio and the distribution of API-T in each phase.

Crystallization	Entry	Charged composition of acetone [wt%]	API-T concentration [g/g-solvent]	Distribution of API-T (supersaturation ratio)			Average aspect ratio [-]
				Continuous [wt%]	Oil [wt%]	Oil [wt%]	
Oiling out	Run 1	47.0	0.070	18.4 (2.2)	81.6 (2.3)		1.7
	Run 2	50.0	0.070	36.8 (2.2)	63.2 (2.2)		1.9
	Run 3	50.5	0.070	47.3 (2.4)	52.7 (2.1)		2.5
	Run 4	51.0	0.070	57.5 (2.5)	42.5 (2.2)		2.8
	Run 5	51.5	0.070	69.7 (2.6)	30.3 (2.2)		3.1
Single-phase	Run 6	45.1	0.014	100 (2.2)	-		3.5
	Run 7	52.0	0.070	100 (3.0)	-		3.3
	Run 8	60.0	0.25	100 (2.5)	-		2.9
	Run 9	70.8	0.68	100 (2.2)	-		1.6

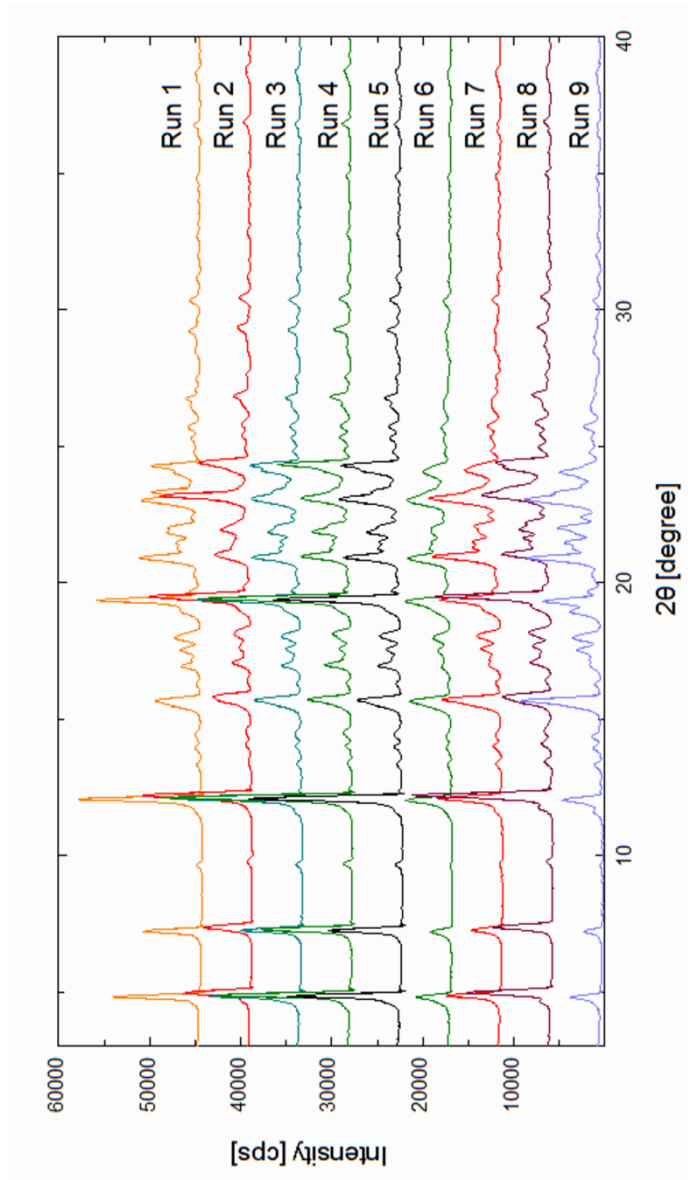


Figure 4-4. X ray diffraction patterns of crystals obtained by oiling out crystallization, Runs 1-5, and single-phase crystallization, Runs 6-9.

Figure 4-5 (a)は単相晶析におけるアスペクト比の粒子径依存性を示したものである。上述したようにアスペクト比はアセトン溶媒組成に依存していたが、粒子径には依存していない。しかし Figure 4-5 (b)で示すようにオイルアウト晶析では、アスペクト比は結晶粒子径の増大に伴って減少した。粒子径に依存したアスペクト比の減少は、オイル相、連続相のどちらで結晶が成長したかという違いに起因している。

工業生産における晶析工程において、結晶の回収率は重要であるため、晶析は溶解度の低い条件で行うことが多い。API-T の場合は、Run 1 や Run 6 のようなアセトン溶媒組成が低い条件で行う必要がある。この場合、アスペクト比の小さい結晶を得るためには、Table 4-1 で示したようにオイルアウト晶析の活用が望ましい。場合によっては、収率と引き換えに高いアセトン溶媒組成で単相晶析を行う選択肢もありうるが、やはり、結晶の製造効率を考えるとオイルアウト晶析の方が、アスペクト比の制御に関して望ましい操作といえる。しかも、後述するようにオイルアウト晶析では、Figure 4-6 で比較するように大きな粒子径の結晶の取得も期待できる。

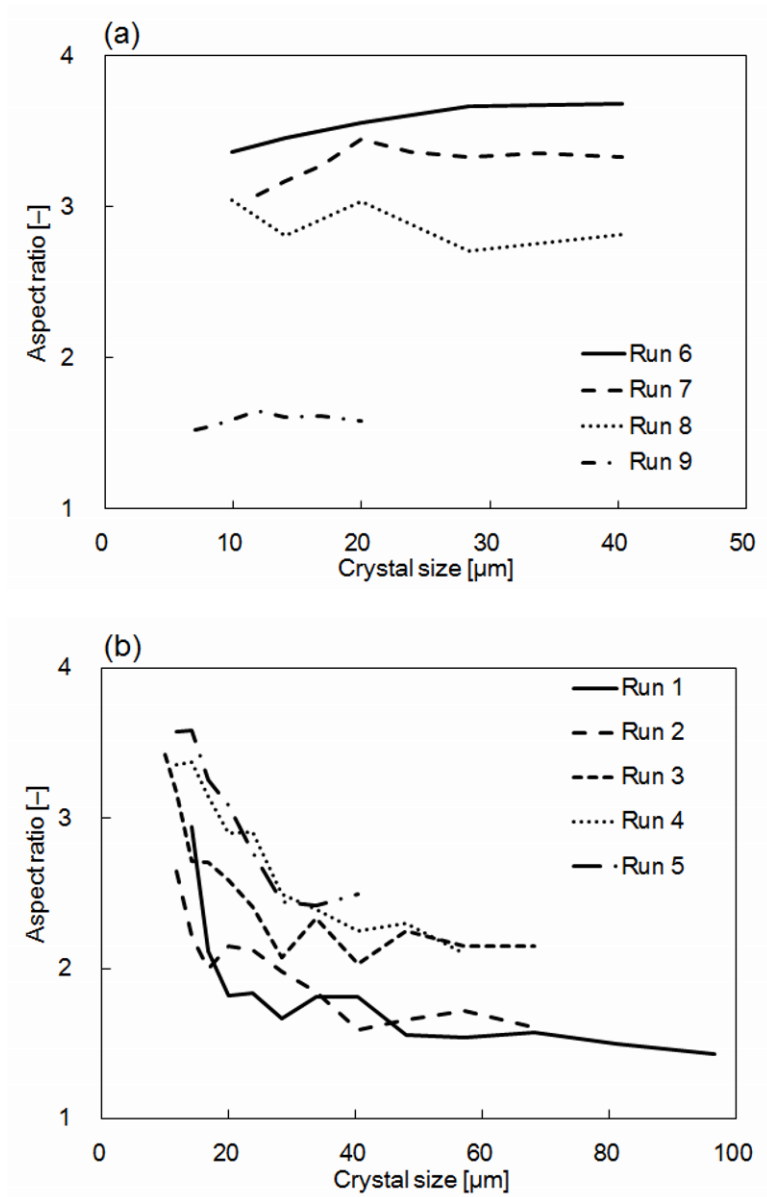


Figure 4–5. Dependence of aspect ratio on the crystal size obtained by (a) single-phase crystallization and (b) oiling out crystallization.

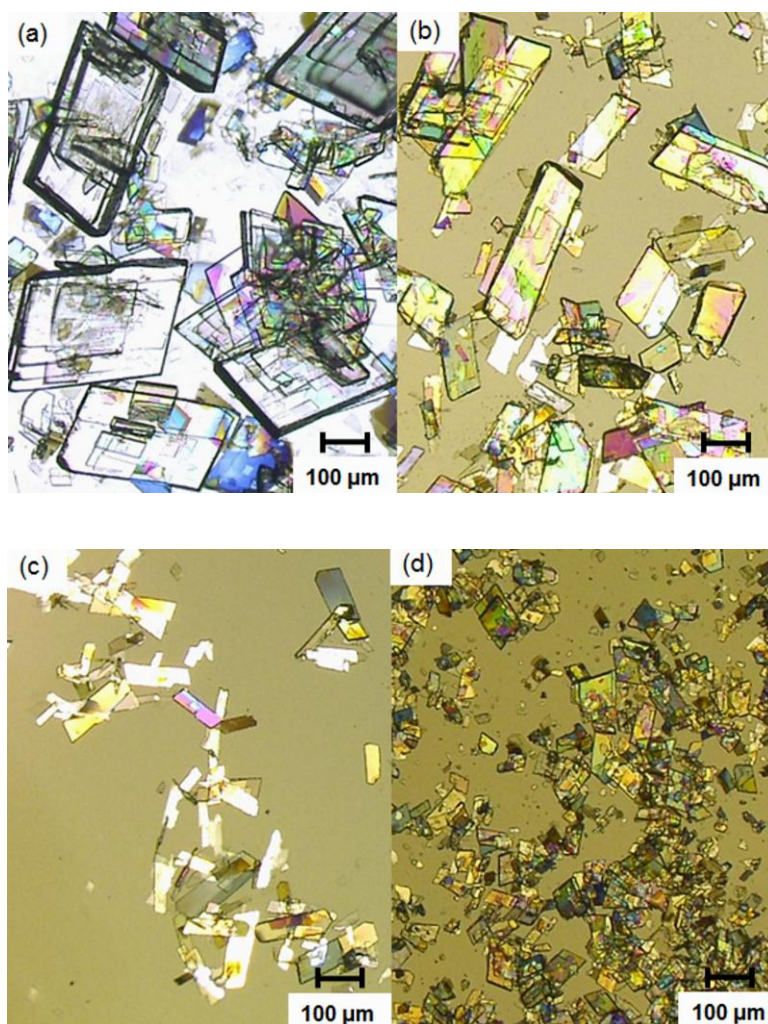


Figure 4–6. Micrographs of the crystals obtained from the oiling out crystallization, (a) Run 1 and (b) Run 5, and the single-phase crystallization, (c) Run 6 and (d) Run 9.

4.3.4 結晶粒度分布

Figure 4-6 (a)に示したオイルアウト晶析(Run 1)で得られた結晶は Figure 4-6 (d)に示した単相晶析(Run 9)で得られた結晶よりも大きいことがわかる。Table 4-1 に示したように過飽和比は 2 つの実験でほとんど同じであるため、結晶粒子径の違いは過飽和比では説明し難い。第 3 章で示したようにオイルアウト晶析において、攪拌速度を 200 rpm と速くしてオイル滴を小さくすることで、オイル滴内の核発生を抑制し、粗大な結晶が得られたと理解できる。ここで第 3 章で示した結果は Run 2 の組成において得られた結果であり、Table 3-1 から液滴として存在するオイル相の液重量比率は 10.3 wt% である。Run 1 の条件におけるオイル相の液重量比率は 11.6 wt% であるため、同攪拌条件において合一により Run 2 におけるオイル滴よりも大きくなっている可能性は否定できないが、液重量比率の差を考慮するとその影響は低いと考えられる。

オイル滴と同様にオイルと連続相における API-T の分配量比も粒度分布に影響を与えると考えられる。すなわち、オイル相に分配されている API-T の量が多ければ多いほど、結晶の粒子径は大きくなると考えられる。Figure 4-7 はオイルアウト晶析(Run 1~5)とそれと同等の API-T 濃度の単相晶析(Run 7)で得られた結晶の粒度分布を比較したものである。最も大きな結晶が得られた Run 1 はオイル相への API-T の分配が最も多かった実験である。オイル相への API-T の分配量が大きくなればなるほど、より大きい方へ粒度分布がシフトする。また Run 3~5 の粒度分布は 2 峰性となっており、小さい方の結晶群の粒度分布のピークが Run 7 のピークに一致している。これは、小さい結晶がオイル相消失後に生成したことを示唆している。連続相における核発生はオイル相消失前にも起こっているが、前章(Fig. 3-10)で示したように核発生が起こっていないオイル滴の API-T を吸収して大きく成長しているはずである。オイル相消失に伴い、連続相で生まれた結晶はオイル相に分配された API-T を利用できないため、それら微結晶の結晶成長速度は単相晶析の Run 7 と同レベルまで減少していると考えられる。これらの考察により、小さい方の粒度分布にある結晶群は、オイル相消失後の連続相から析出した結晶が主であると考えられる。この影響は、Run 1 と 2 の粒度分布にも現れているはずで

あるが、連続相への API-T の分配量が少なすぎるため、2 峰性にはなっていない。Figure 4-8 に示すように小さい結晶群の粒度分布の割合は、オイル相消失後の連続相に分配されていた API-T 濃度から見積もった理論的結晶析出量と良好に一致している。これは Figure 4-7 で示した 2 峰性分布に関する上述の議論の妥当性を示すものである。

Run 1～5 は混合溶媒のアセトン溶媒組成を変えて行ったものである。すなわち、アセトン溶媒組成を変えることによって、アスペクト比、粒度分布を制御することができるといえる。単相晶析ではアスペクト比の小さい結晶を得る場合は高収率とはならず、また得られる結晶の粒子径も微小であった。オイルアウト晶析を活用することで、ろ過速度向上に望ましいとされるアスペクト比の小さい粗大結晶を高収率で得ることが可能となった。本実験条件において得られた結果は、過飽和比の違いによるものではなく、オイルアウト晶析がもたらす効果によるものである。

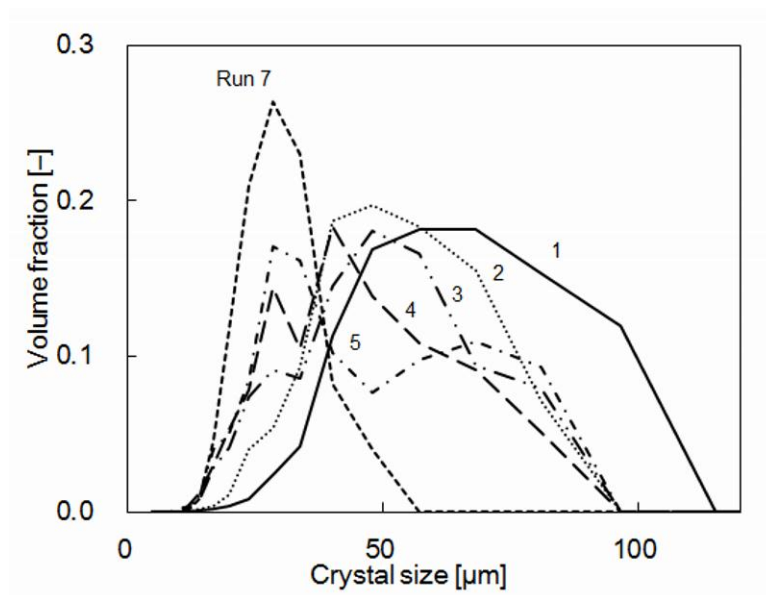


Figure 4-7. Crystal size distribution obtained from oiling out crystallization (Runs 1-5) and single-phase crystallization (Run 7).

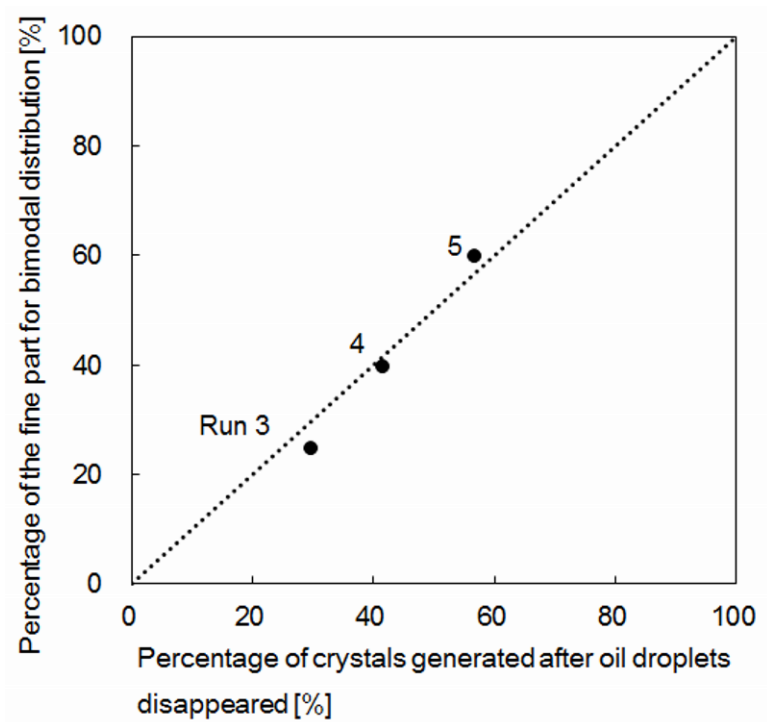


Figure 4–8. Relationship of the percentage of crystals obtained after the oil droplet disappearance and the percentage of the fine part for bimodal distribution.

4.4 結言

医薬品原薬 API-T をアセトン水混合溶媒に用いてオイルアウト晶析実験を行った。オイル化、すなわち相分離後において、各相の組成は各相におけるアセトン溶媒組成に対応する曇点曲線上の組成に一致することがわかった。相分離前の初期アセトン溶媒組成を小さくするほど、オイル相の API-T 濃度およびアセトン溶媒組成が増大し、連続相では減少することがわかった。単相晶析で小さいアスペクト比の結晶を得るためには、アセトン溶媒組成が大きな混合溶媒を用いる必要があるが、その場合は溶解度が高くなるため API-T 結晶の回収率が低くなるという問題が生じた。しかし、低いアセトン溶媒組成でオイルアウト晶析を行うと、結晶の回収率を高くできるとともに、アスペクト比の小さい結晶を得ることができるとわかった。

晶析速度はオイル相消失前後で異なることが示唆された。またオイル相に分配される化合物の割合は、初期溶媒組成によって変えることが可能であることがわかった。これを利用して、核発生を抑制できる微小液滴として晶析槽内に存在するオイル相への化合物の割合を増加させることで、結晶粒度分布を大きくなる方向に移動させることができた。

以上のようにオイルアウトを有効に利用し、溶媒組成を適切に制御することで、単相晶析では得ることのできないう過速度向上に優位であるアスペクト比が小さく、かつ粗大結晶を高収率で得ることができた。

引用文献

- (1) 松本 幹治, "ユーザーのための実用固液分離技術", 分離技術会. 2010, 136–137.
- (2) 高須賀 正博, "晶析工学は、どこまで進歩したか (最近の化学工学 64)", 三恵社. 2015, 99–101.
- (3) Kubota, N.; Doki, N.; Yokota, M.; Sato, A., "Seeding policy in batch cooling crystallization", *Powder Technol.* 2001, *121*, 31–38.
- (4) Shan, G.; Igarashi, K.; Noda, H.; Ooshima, H., "Production of large crystals with a narrow crystal size distribution by a novel WWDJ batch crystallizer", *Chem. Eng. J.* 2002, *85*, 161–167.
- (5) Holmback, X.; Rasmuson, A. C., "Size and morphology of benzoic acid crystals produced by drowning-out crystallisation", *J. Cryst. Growth* 1999, *198/199*, 780–788.
- (6) Lafferrere, L.; Hoff, C.; Veessler, S., "Study of liquid–liquid demixing from drug solution", *J. Cryst. Growth* 2004, *269*, 550–557.
- (7) Lai, S. M.; Yuen, M. Y.; Siu, L. K. S.; Ng, K. M.; Wibowo, C., "Experimental determination of solid-liquid-liquid equilibrium phase diagrams", *AIChE J.* 2007, *53* (6), 1608–1619.
- (8) Lu, J.; Li, Y.; Wang, J.; Ren, G.; Rohani, S.; Ching, C., "Crystallization of an active pharmaceutical ingredient that oils out", *Sep. Purif. Technol.* 2012, *96*, 1–6.
- (9) Deneau, E.; Steele, G., "An in-line study of oiling out and crystallization", *Org. Process Res. Dev.* 2005, *9*, 943–950.
- (10) Kim, S.; Wei, C.; Kiang, S., "Crystallization process development of an active pharmaceutical ingredient and particle engineering via the use of ultrasonics and temperature cycling", *Org. Process Res. Dev.* 2003, *7*, 997–1001.

- (11) Veessler, S.; Revalor, E.; Bottini, O.; Hoff, C., "Crystallization in the presence of a liquid-liquid phase separation", *Org. Process Res. Dev.* 2006, *10*, 841–845.
- (12) Bonnett, P. E.; Carpenter, K. J.; Dawson, S.; Davey, R. J., "Solution crystallisation via a submerged liquid–liquid phase boundary: oiling out", *Chem. Commun.* 2003, 698–699.
- (13) Deneau, E.; Steele, G., "An in-line study of oiling out and crystallization", *Org. Process Res. Dev.* 2005, *9*, 943–950.
- (14) Veessler, S.; Lafferrere, L.; Garcia, E.; Hoff, C., "Phase transitions in supersaturated drug solution", *Org. Process Res. Dev.* 2003, *7*, 983–989.

第5章

総括

本研究は、医薬品原薬の晶析操作における結晶粒度制御についてまとめたものである。既往の研究による結晶粒度制御としては、過飽和比による制御方法が多く報告されている。しかし、医薬品開発過程で生じる様々な制限により、過飽和比の制御では得られない粒子径範囲の結晶を取得することが求められる場合も多い。本論文ではこれについて検討した結果をまとめた。

第 1 章では、医薬品開発の背景と晶析操作との関係を示した。医薬品原薬製造において求められている結晶は体内への吸収を高めるための微小な結晶と、ろ過操作などの生産効率を高めるための粗大な結晶である。微小な結晶を得るための方法として挙げられる粉碎操作の現状と問題点をまとめ、また粗大結晶を晶析操作で得るための既往の研究とその課題について示した。

第 2 章では、高せん断攪拌機をセミバッチ循環式晶析操作に組み込むことにより、粉碎操作では到達できない微小な医薬品原薬結晶の取得を試みた。医薬品原薬製造で汎用的に用いられている攪拌槽の攪拌翼(3 枚後退翼)よりも、高い翼先端速度を実現することが可能である高せん断攪拌機によって得られる攪拌効果を利用して、晶析プロセス中における 2 次核発生を促進させ、微小な結晶を取得した。本結果は、1,000 L スケールのパイロット製造においてもその効果を実証し、従来の攪拌翼では達成できなかったレベルの微粒子化が高せん断攪拌機を用いることで可能であることを示した。

第 3 章では、オイルアウト現象を伴う医薬品原薬の晶析について検討した。オイルアウト後のオイル相が攪拌時において液滴となっていることに着目し、その滴径が攪拌速度によって制御できることを見出した。オイル滴と最終的に得られる結晶粒子径に相関があることがわかり、核発生との関連性について検討した。その結果、攪拌速度を速めることでオイル滴径を小さくし、2 次核発生を抑制できることを示した。同操作によって得られる結晶は、生産効率に関して優位となる粗大結晶であり、同等過飽和比におけるオイルアウトしない単相晶析では達成できないレベルまで大きくなることを示した。

第4章では、第3章で検討したオイルアウト晶析について、混合溶媒の組成を変えた時の影響について検討した。相分離前の初期溶媒組成を変える事で、液液相分離後の両相の組成や化合物の分配量が変化することがわかった。オイルアウト後のオイル相の溶媒組成が初期組成と大きく異なることを利用し、回収率を向上させる低いアセトン溶媒組成においても、アスペクト比の小さな結晶を取得できることを示した。液液相分離後の両相の組成変化を利用して、化合物のオイル相への分配量を増加させ、より2次核発生を抑制することで、ろ過性向上に有利であるアスペクト比の小さい粗大結晶を得ることに成功した。

これらの検討結果から、高せん断撹拌機がもたらすせん断力を用いることや、溶液を2相に分離することによって得られる微小液滴空間の利用、及び溶媒組成の変化による化合物分配率の操作によって、2次核発生を制御することが可能であることを示した。いずれにおいても過飽和比を制御するのみでは得られない粒子径の結晶を得ることができており、医薬品の体内への吸収を向上させる微小結晶、およびろ過速度向上に望ましいアスペクト比の小さい粗大結晶を取得する方法を提案できた。本手法は過飽和比に依存していないため、様々な系において適用可能である。例えば、高せん断撹拌機は本研究で示したようにセミバッチ循環方式に導入することで、微小結晶が求められる全ての医薬品原薬に適用可能である。またオイルアウト現象は医薬品原薬だけでなく、その中間体化合物の晶析においてもしばしば見られる現象であるにもかかわらず、未解明の部分が多く回避する傾向があったが、本研究結果で得られた知見からその理解を深めることができ、積極的に液液相分離を利用することで、核発生を制御できることを示した。以上から本検討における手法は、過飽和比を制御することでは成しえない様々な晶析系における結晶粒度制御にも適用できるため、汎用性の高い有用な手法といえる。

発表論文

第2章 Kamahara, T.; Takasuga, M.; Tung, H. H.; Hanaki, K.; Fukunaka, T.; Izzo, B.; Nakada, J.; Yabuki, Y.; Kato, Y., "Generation of Fine Pharmaceutical Particles via Controlled Secondary Nucleation under High Shear Environment during Crystallization – Process Development and Scale-up", *Org. Process Res. Dev.* 2007, *11*, 699–703.

第3章 Takasuga, M.; Ooshima, H., "Control of Crystal Size during Oiling Out Crystallization of an API", *Cryst. Growth Des.* 2014, *14*, 6006–6011.

第4章 Takasuga, M.; Ooshima, H., "Control of Crystal Aspect Ratio and Size by Changing Solvent Composition in Oiling Out Crystallization of an Active Pharmaceutical Ingredient", *Cryst. Growth Des.* 2015, *15*, 5834–5838.

謝辞

本論文は、大阪市立大学 大学院工学研究科 化学生物系専攻 大嶋 寛教授の指導の下、後期博士課程在学中の研究成果をまとめたものである。本研究の遂行にあたり、晶析操作を中心とした化学工学全般における懇切丁寧なご指導のみならず、研究者としてのあるべき姿勢や思考の質について、多大にご教授頂きましたことを心より感謝申し上げます。また本論文を作成するに当たり、有益なご助言とご指導を頂きました東 雅之教授、小島 誠也教授に深く感謝いたします。同専攻の五十嵐 幸一講師には様々な面で、常に的確なアドバイスやご支援を頂き、この場を借りて御礼申し上げます。また同研究室の方々には、研究活動やその他についてもお世話になり、感謝いたします。

本研究の遂行にあたり、旧万有製薬株式会社の伊藤 寿夫氏、加藤 喜章氏、藪亀 恭明氏には多岐に渡りご指導頂き、感謝の意を表します。また中田 次郎氏、福中 唯史氏、鎌原 崇氏、花木 恵悟氏には実験、製造業務に関してご協力いただき、また数多くのご助言を頂き、感謝申し上げます。また様々な面でアドバイスを頂いた MSD 株式会社 Hsien-Hsin Tung 氏、Bill Izzo 氏に深く感謝いたします。

本研究において、社会人博士課程として大阪市立大学に入学することを許可して頂き、様々な面でサポートを頂いた武田薬品工業株式会社 製薬研究所の梶野 正博前所長、ならびに橋本 秀雄所長に深く感謝いたします。また会社外部における研究発表時にご指導いただいた山下 誠前リサーチマネージャー、黒田 賢史リサーチマネージャー、David Cork 主席研究員、向井 浩二主席研究員、またグループのメンバーの方々に御礼申し上げます。

2016年 3月 高須賀 正博