

# 結晶多形の構造制御における添加物ならびに溶媒効果

(課題番号 11650783)

平成11年度～12年度  
科学研究費補助金基盤研究(C)(2)  
研究成果報告書

平成13年3月

研究代表者 北村 光孝  
(広島大学工学部助教授)

結晶多形の構造制御における添加物  
ならびに溶媒効果

(課題番号 11650783)

平成 11 年度、12 年度科学研究費補助金(基盤研究(C)(2))

研究成果報告書

平成 13 年度3月

研究代表者 北村光孝  
(広島大学工学部助教授)

## はしがき

本報告書は、平成 11 年度および 12 年度にわたる科学研究費補助金(基盤研究(C)(2))「結晶多形の構造制御における添加物ならびに溶媒効果」に関する研究成果をまとめたものである。

## 研究組織

研究代表者：北村光孝(広島大学工学部助教授)

## 研究経費

平成 11 年度	2,300 千円
平成 12 年度	800 千円
計	3,100 千円

## 研究発表

### I) 学会誌、国際会議での発表論文

1) Inclusion behavior of isomorphous impurities in crystallization of L-glutamic acid

M.Kitamura and T.Nakamura

14th International Symposium on Industrial Crystallization, Cambridge(1999)

2) Inclusion of amino acids and the effect on growth kinetics of L-glutamic acid

M.Kitamura and T.Nakamura

Proc. Bradford International Workshop on Industrial Crystallization, 72-75

(1999)

3 )In situ Observation of Growth Process of  $\alpha$ -L-Glutamic Acid with  
Atomic Force Microscope

M.Kitamura and Onuma

J. Colloid. Interface Si., 224, 311-316(2000)

4)Inclusion of amino acids and the effect on growth kinetics of L-glutamic acid

M. Kitamura and T.Nakamura

Powder Technology, in press

5) Thermodynamic stability and transformation behavior of polymorphs of  
thiazole-derivative

M.Kitamura and K.Nakamura

submitted to Crystal Growth Design

## II. 学会などでの発表

1)チアゾール誘導体結晶多形の析出ならびに転移挙動

北村光孝、中村慶一郎

化学工学会徳島大会 講演要旨集 SB-9(1999)

2)Crystallization and transformation behaviors of the polymorphs of thiazole  
derivative

M.Kitamura and K.Nakamura

化学工学会第64年会 講演要旨集 O306(2000)

3)Crystallization of polymorphs of thiazole derivative

M.Kitamura

International Chemical Congress of Pacific Basin Societies; PACIFICHEM2000,  
Hawaii, ANYL 337(2000)

# 結晶多形の構造制御における添加物ならびに溶媒効果

## 1.はじめに

機能性素材や食品、医薬品などのファインケミカル工業においては結晶構造の異なる固相がひんぱんに現れる（結晶多形現象）。これら多形ではその構造の違いから、固液分離特性、結晶純度、粒径あるいは非線型性光学特性等とも密接に関係する。このためこれら多形を溶液中から選択的に得るための制御は工業的に重要な問題となっている。さらに、これら多形間では転移が進行するが、これは液剤中からの結晶の析出、あるいは粉末製剤の固結固化などの問題を引き起こす原因となっている。このため、これらの多形現象を明らかにし、高精度の析出制御を可能にすることは、その物質の実用化において極めて重要な問題となっている。結晶多形の析出過程は溶液中での各多形の結晶核の形成、それらの競合的成長、ならびに準安定構造から安定構造への転移の3過程よりなると考えられる。このため、代表者は、多形制御においてはこれらの素過程に分離した検討が必要と考えている。

ここで、多形の析出過程についてみるとまず、溶液中で各多形の核発生が起こるが、一般に用いられる均一核発生速度式を、多形（ $i$ 形）に適用すると各々の核発生速度  $J_i$  は次式のように表される。

$$J_i = A_i \exp \left[ \frac{-16\pi\sigma_i^3 v_i^2}{3(kT)^3 (\ln S)^2} \right] \quad (1)$$

上式中、 $A$  は頻度因子、 $\sigma$  は界面エネルギー、 $v$  は固体密度、 $S$  は過飽和度、 $T$  は絶対温度、 $k$  はボルツマン因子である。

(1) 式において、 $J$  は  $S$  と  $\sigma$  の相対的な効果により決まる。ここで、多形間では溶解度の違いにより、核発生の推進力である過飽和比 ( $S$ ) は常に安定形の方が大きい。一方、界面エネルギー ( $\sigma$ ) は、界面構造や溶媒の吸着などが関与すると考えられ評価が困難な物性であるが、一般に溶解度の大きい準安定形が小さいと考えられる。このため、高過飽和度では、界面エネルギーの小さい準安定形の析出が優勢となると考えられる。これはオストワルドの段階則<sup>2)</sup>として知られている。一方、低過飽和度では、

相対的に $\sigma$ よりも $S$ の効果が大きくなり、安定形の析出が起こることが考えられる。しかし、実際にはこれまで、代表者がL-グルタミン酸多形の晶析で報告しているように過飽和度により析出挙動が異なることは観察しがたい。

また、核発生した多形は各々成長するが、多形間で過飽和度は異なるため、特に低過飽和度では安定形の成長速度がより大きくなる。しかし、過飽和度の大きい晶析条件下では必ずしもそのことは成立しない。また、他の多形上に別の多形がエピタキシャルに成長することもある。

つぎに、析出した多形間では自由エネルギーの違いによって、転移が進行する。転移には一方向のみしか進行しない単変転移と転移が可逆的に起こる互変転移がある。また、転移の機構として結晶を構成する分子やイオンが熱運動により再配列する固相転移と称する。また医薬品では、粉碎などの製剤工程でメカノケミカルな固相転移が進行することが知られている。しかし、有機分子のように分子構造の複雑なものでは、その立体障害のため固相転移は容易には起こらず、溶液中の物質移動にもとづく転移（溶液媒介転移と呼ぶ）が進行する場合が多い。これは準安定形が溶解するとともに、安定形が核発生し成長するというメカニズムによるものである。このとき転移速度を支配する主たるパラメーターとして、安定形の成長速度と準安定形の溶解速度があるが、特に安定形の核発生が起こりにくい場合にはこの核発生速度が支配因子となる。

以上に示した多形結晶の析出過程においては種々の添加物や溶媒の影響を受けることが知られている。しかし、現実的には添加物や溶媒の種類と析出挙動との相関性が複雑で不明の点が多い。代表者は従来からこの問題に着目した検討を行ってきた。本研究では、これまでに得られた結果をさらに発展させる観点から、添加物効果に関してはL-グルタミン酸結晶の成長過程に及ぼす他種アミノ酸の影響について、また、溶媒効果に関しては医薬の一種であるチアゾール誘導体結晶多形に及ぼす溶媒組成の影響について検討を行った。L-グルタミン酸結晶については単一結晶の成長過程へのL-フェニルアラニンの検討を行うとともに、数種のアミノ酸を用いてL-グルタミン酸の晶析速度への影響およびその取り込みに関する検討も行った。以下にはこれらの概要と別刷りをまとめている。

## 2. 添加物効果

### 2. 1. 成長過程へのL-フェニルアラニンの影響

不純物は結晶の核発生と成長過程の両者に特異的な影響を与えることが知られているが、多形の析出挙動も変化させる。これは不純物の核発生ならびに成長への影響が多形により異なるためである。このことが原因となり不純物は溶液媒介転移の速度にも大きく影響する。近年、不純物の効果についてはその結晶構造と添加物の分子構造の相関性についての Crystallographic な検討が盛んになされるようになってきている。しかし、実際の現象においては速度論的な検討が重要と考えられる。筆者らはこのような観点から L-グルタミン酸 (L-Glu) の成長過程における L-フェニルアラニン (L-Phe) の影響についての検討を行った。

単一結晶を用いて、純粋系とフェニルアラニン存在系での L-グルタミン酸の成長速度の測定を行いその添加物効果について検討を行った。この結果、

純粋系におけるこれら多形結晶の成長は  $\alpha$  形、 $\beta$  形ともに成長機構はいずれも表面反応過程が支配的でありそのメカニズムは多重 2 次元核発生によると考えられた。また、このことは同時に原子間力顕微鏡 (AFM) による成長表面の観察結果から確かめられた。

一方、L-フェニルアラニン存在下での測定から  $\alpha$  形単一結晶の成長では、(0 0 1)面の成長速度には影響が見られな

いが、[110]方向では成長速度は減少し、ついには完全に停止することが認められた(図 1)。また、

このとき著しいモルフォロジー変化が起こり (1 1 0) 面の出現が観察され

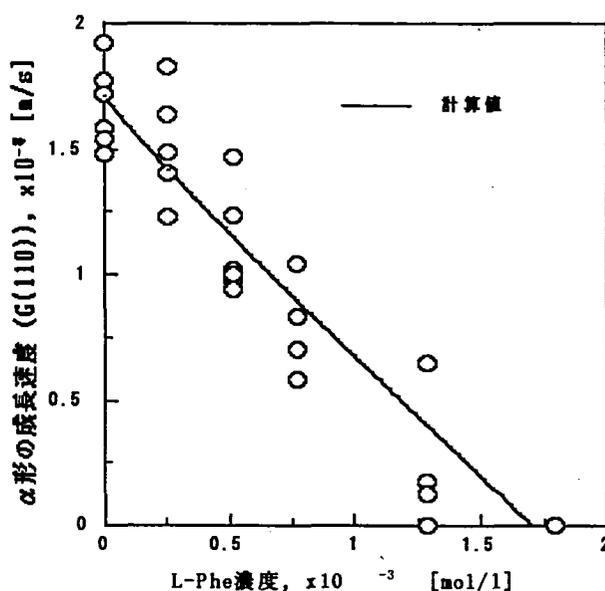


図 1.  $\alpha$  形の成長速度と L-Phe 濃度の関係

た。一方、 $\beta$ 形でも長軸方向の成長速度が抑制されるが、 $\alpha$ 形の約1/2のL-フェニルアラニン濃度で完全に成長は停止した。

ここで、成長速度への添加物効果については、添加物の成長面への吸着を考えて、一般に次式がよく用いられる。

$$G = G_0(1 - \theta) \quad (2)$$

但し、 $G_0$  は純粋系での成長速度、 $\theta$  は被覆率である。

$\theta$  は Langmuir 型等温式により次式で与えられる。

$$\theta = \frac{qC_p}{1 + qC_p} \quad (3)$$

しかし、本系で得られた結果は旧来良く用いられてきた Langmuir 式にもとづく (2)、(3) 式では説明できない。そこで、結晶表面上に添加物が吸着するとステップは吸着分子の間を円弧状に張り出す形で成長すると考え、成長速度を円弧状ステップの前進速度で近似したモデルを新たに考案した ( (4) 式)。この中で、筆者らは吸着密度、 $d$ 、をパラメーターとして用い、成長速度を表現した。

$$G = G_0 \left[ 1 - 2\rho_c d^{1/2} \right] \quad (4)$$

$$\rho_c = \frac{\gamma a}{kT\sigma}$$

但し、 $\rho_c$  は臨界半径、 $\gamma$  はエッジ自由エネルギー、 $a$  は格子定数を示す。

この関係を用いれば吸着密度、 $d$  について種々の吸着等温式が適用できる。ここでは Langmuir 型、および Freundlich 型を用いて検討を行ったが、この結果、Langmuir 型は適用できず、Freundlich 型の吸着等温式が適用できることが明らかになった。

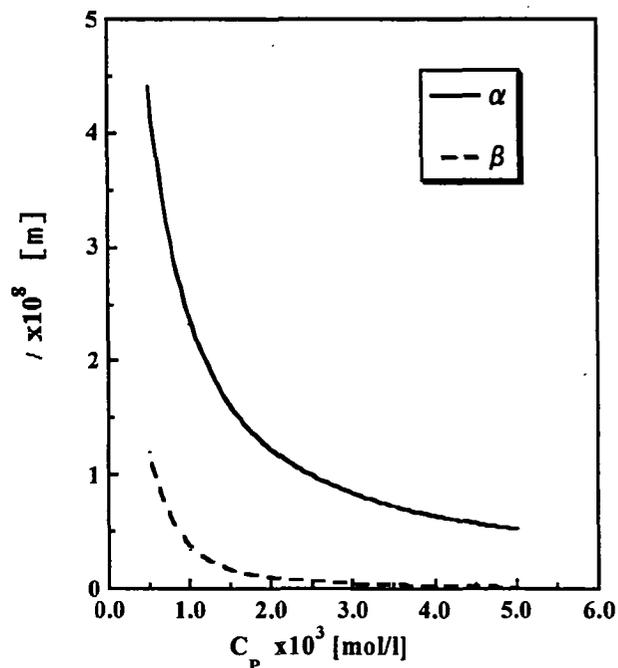


図2. 吸着分子間距離とL-Ph e濃度の関係

すなわち成長速度と不純物濃度の関係は (5) 式で現される。

$$G = G_0 \left[ 1 - 2\rho_c (KCp^n)^{1/2} \right] \quad (5)$$

$$d = KCp^n \quad (6)$$

一方、過飽和度  $\sigma$  と成長速度の関係については次式が導かれる。

$$\frac{(G_0 - G)}{G_0} = \frac{B}{\sigma} \sqrt{d} \quad (7)$$

図1の実線はこのモデルを用いた計算結果を示している。実験結果がほぼ良好に表現されていることがわかる。さらに、吸着密度から吸着分子間距離  $l (=1/\sqrt{d})$  を計算すると  $\alpha$  形と  $\beta$  形について図2が得られる。これから  $\beta$  形の吸着密度が高く、 $\alpha$  形よりも分子間距離が小さいこと (約 1/5-1/10) が分かる。これより L-Phe は  $\alpha$  形の (110) 面よりも  $\beta$  形の (101) 面に強く吸着し、 $\beta$  形の成長速度を相対的に減少させることが分かる。

さらに、このモデルについて検証を行うため、原子間力顕微鏡を用い、成長する結晶の(111)面の in-situ 表面観察を行った。この結果、純粋系と比べて結晶表面上には多くの円弧状のマクロステップが観察された。このことは、上記モデルの妥当性を示唆している。

## 2. 2. L-グルタミン酸結晶中への他種アミノ酸の混入

晶析操作は多種多様の固体製品の製造プロセスとして用いられている。この晶析操作において、副生成物等として存在する種々の添加物あるいは不純物が結晶の析出挙動に影響を与えることが知られており、種々の問題に原因ともなっている。例えば不純物は結晶の析出速度を変化させるばかりでなく、結晶の形状 (晶癖に) 影響を与える。このとき、不純物が結晶中に混入すれば結晶の純度を低下させることになる。さらに、結晶多形を有する物質においては結晶多形の析出挙動を変化させることが観察されている。しかし、この添加物の影響は複雑でその分子構造と晶析挙動、あるいは混入挙動との相関性、あるいはそれらの効果のメカニズムについてはまだ不明の点が多い。

このため、添加物分子と晶析過程への効果の相関性について定量的な検討を行い、メカニズムを明らかにすることが重要である。しかし、これまでこのような観点からの検討の例は少ない。

そこで、本研究では L-グルタミン酸をとりあげこの析出過程への添加物の影響に関して分子構造と混入の挙動に着目した検討を行った。添加物分子としてその分子構造を系統的に変化できることから L-グルタミン酸と類似構造を持つ他種アミノ酸を用いた。ここではアミノ酸添加物として分子の大きさ、形状の異なる L-バリン、L-ロイシン、L-イソロイシン、L-ノルロイシンを用いこれらの検討を行った。

### 実験方法と装置

装置としては、ガラス製二重円筒型晶析器を用い、L-グルタミン酸水溶液に所定量のアミノ酸添加物を加え、335K で溶液を完全に溶解させた後、298K まで急冷を行った。ここで、種晶を溶液に添加し、その後の濃度変化を高速液クロ (HPLC) で測定した。また、結晶中への、他種アミノ酸の取り込み量の測定においては母液付着の影響を調べるため洗浄実験として、L-ロイシンの系でサンプリングした結晶をメタノール/水の体積割合=1/1の洗浄液で、1回につき 10cc ずつ洗浄し、その結晶組成の変化を測定した。

### 結果と考察

(1) 添加物の L-グルタミン酸濃度変化への影響

図 3 は L-ロイシン (L-Leu) を添加したときの L-Glu 濃度の低下を経時的に測定したものである。これより L-Leu の添加により析出速度が減少することが分かる。また、その減少量は L-Leu 濃度とともに大きくなる。このような傾向は他のアミノ酸の添加によっても認められた。

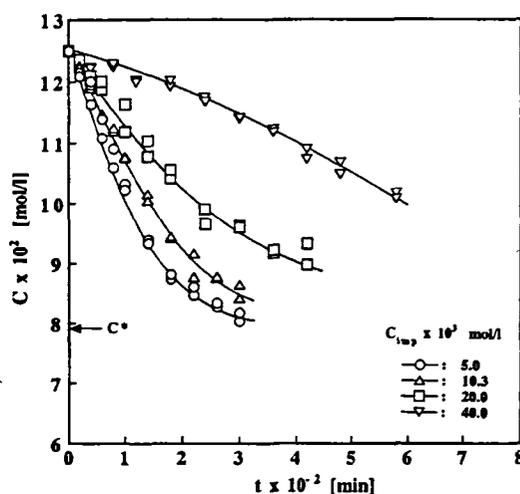


図 3 L-Leu 添加における L-Glu 析出速度の変化

ここで、析出速度についてさらに詳細な検討を行うため、各添加物について相対的析出速度  $P'$  を求めた。

(2) 相対的析出速度 ( $P'$ ) の算出

L-グルタミン酸濃度の経時変化の結果について析出速度の算出を行い、比較検討を行った。ここで、析出速度  $P$  [ $\text{mol}/(\text{cm}^2\text{s})$ ] は次式で表わされる。

$$P = k \frac{v}{\rho^{-2/3} M^{2/3}} \left( \frac{dC}{dt} \right) = kP' \quad (8)$$

$$P' = \frac{v}{\rho^{-2/3} M^{2/3}} \left( \frac{dC}{dt} \right) \quad (9)$$

ここで、 $k$  は定数、 $v$  は溶液体積 [ $\text{cm}^3$ ]、 $\rho$  は固体密度 [ $\text{mol}/\text{cm}^3$ ]、 $M$  はその時点での結晶量 [ $\text{mol}$ ]、 $dC/dt$  [ $\text{mol}/(\text{cm}^3\text{s})$ ] は L-グルタミン酸濃度経時変化のプロットにおける接線の傾きである。

(3) 析出速度への添加物の影響

図 4 は添加物として L-イソロイシン (L-Ile) を用いた場合の式 (9) より算出した析出速度 ( $P'$ ) と過飽和度 ( $\sigma$ ) の関係を示している。同図より、すべての添加物濃度における  $P'$  の値が L-グルタミン酸純粋系 (実線部) のものより小さくなっていることから、L-イソロイシンが存在することによって L-グルタミン酸の析出速度が抑制されることを示している。また、

添加物濃度が高くなるほど析出速度の値が小さくなる傾向が認められる。このことは添加物濃度とともに析出速度の抑制効果が大きくなることを示している。さらに L-バリン、L-イソロイシン、L-ノルロイシンについても同様な

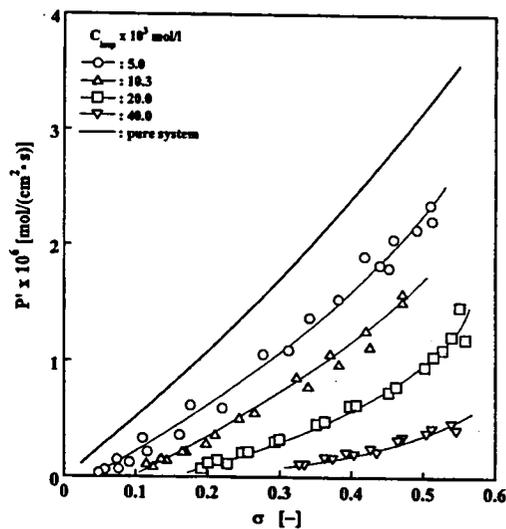


図 4. L-Leu 添加における  $P'vs \sigma$

検討を行った結果、やはり L-グルタミン酸の析出速度が抑制され、添加物濃度とともに析出速度の抑制効果が大きくなることが認められた。

ここで、添加物管の比較を行うと、過飽和度  $\sigma$  に対してプロットした。添加物濃度 0.0050 mol/l の場合、どの添加物も析出速度を抑制することは認められたが、添加物間での違いは認められなかった。しかし、添加物濃度を 0.020 mol/l に上げると添加物間での違いが現われ、析出速度への影響がさらに大きくなることが認められた。

#### (4) 結晶中への取り込み量 に関する検討

L-Glu 結晶中への添加物の取り込み量の測定を行った結果、実際に添加物が結晶中に取り込まれていることが認められた。また、この取り込みが母液の混入などによるものかどうか検討するため洗浄実験による検討を行った。図 5 は L-Leu の場合の結果を示している。これから明らかなように洗浄による影響は小さく、母液付着による影響は小さいものと考えられる。取り込み量の値は、L-バリンが最も大きく L-ロイシン、L-イソロイシン、L-ノルロイシンではその差はあまり認められなかった。

次に、結晶表面上に吸着した添加物分子がそのまま結晶中に取り込まれると仮定し、取り込み量  $R$  を次式で表される Langmuir ((8) 式) および Freundlich ((9) 式) 吸着等温式で相関を行った。

$$R = \frac{pqC_{imp}}{1+qC_{imp}} \quad (10)$$

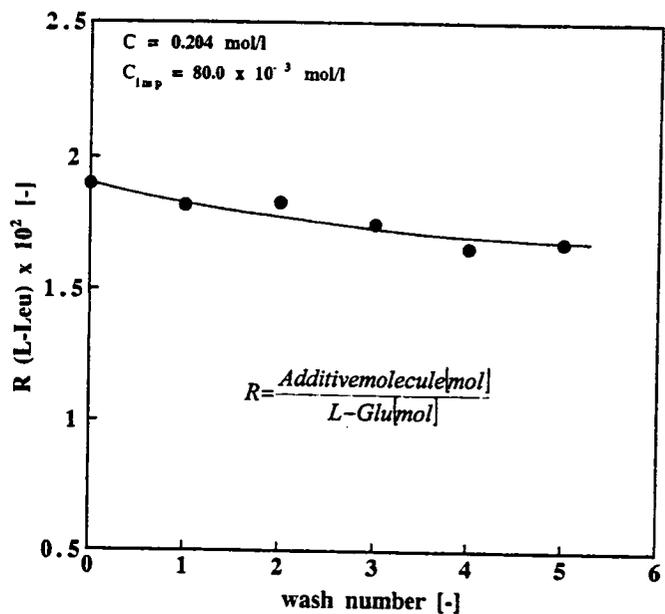


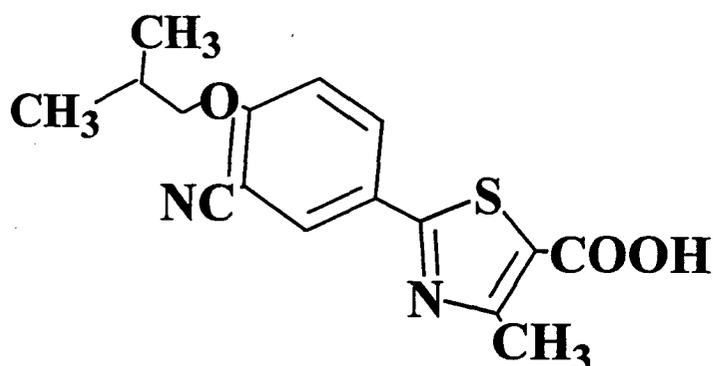
図 5. 混入量における洗浄回数の影響

$$R = kC_{\text{imp}}^n \quad (11)$$

この結果、すべての添加物系において、いずれの式でもほぼ良好に相関できることが認められた。

### 3. 溶媒の影響

結晶多形を多く有する化合物から選択的に特定の多形を得ることは工業的に重要な問題である。ここでは析出させる結晶として 3 種類の多形(A, B, C)と水和物 BH ならびにメタノール和物 D が存在し、その析出ならびに転移挙動が複雑であるチアゾール誘導体結晶( 2-(3-cyano-4-isobutyloxyphenyl)-4-methyl-5-thiazole carboxylic acid 以下 BPT)を用いた。また、液相からの結晶の発生を起こさせるための過飽和状態の生成法として、本研究では貧溶媒添加法を用いることとし、BPT メタノール溶液に貧溶媒である水を添加し、晶析を行った。これらの多形の析出挙動は操作条件によって異なることが認められるがこの操作条件との関係はまだ明確ではない。このため本研究では結晶の熱力学的安定性ならびに析出、転移挙動に及ぼす温度、溶媒効果を明らかにすることを目的として、検討を行った。



### BPT: enzyme inhibitor

#### 実験方法

結晶をメタノール-水混合溶液中に添加して溶液濃度の経時変化の測定を行った。溶液の濃度は UV 吸光光度計により測定し、転移挙動は結晶を採取し、X線回析による分析により多形組成を決定し、検討を行った。

また、結晶をメタノール組成 ( $V_{\text{MeOH}}$ ) 0.95 の混合液に加え温度 333K で溶

解させた。この溶液にポンプで水を添加することにより結晶を析出させ、303Kまで冷却した後結晶を濾過した。このとき水の添加量はメタノール組成が0.95から0.7になるまでとした。

### 結果と考察

各多形の溶解度ならびに転移挙動は溶媒組成に強く依存することが明らかとなった。

例えば、図6にはメタノール組成0.7における303Kでの結果を示しているが、C晶、D晶を溶媒に添加した場合、いずれも溶液濃度は上昇して一定濃度に達した。しかし、A晶、BH晶の場合は、類似の挙動を示し、添加後溶液濃度は上昇した後ピークを示し、その後減少した。この間、A、BH晶はいずれもD晶へ転移することが認められた。また、313Kでは、A、

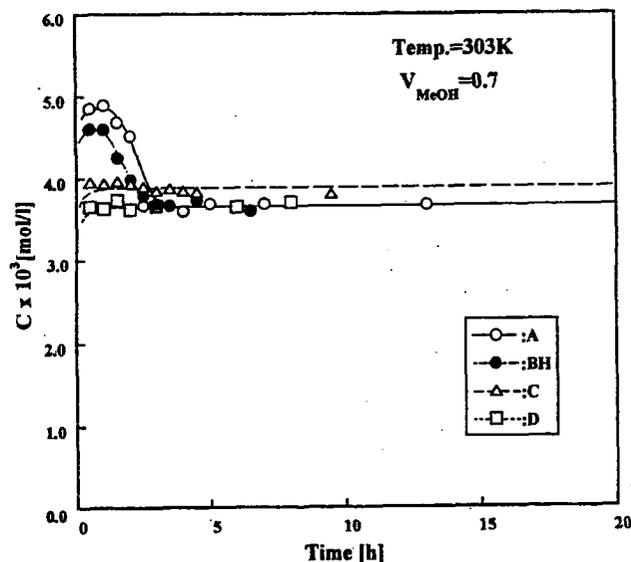


図6. BPT 濃度変化

BH晶はいずれもC晶へ転移することが認められた。323KではA、BH晶、D晶は類似の濃度変化を示し、いずれもC晶へ転移する。C晶は他の温度と同様変化はみられなかった。これらの結果からC晶はいずれの温度でも安定であるが、D晶の安定性は温度に依存することが明らかとなった。

さらに、晶析実験で析出した結晶の多形組成は貧溶媒である水の添加速度に依存することが認められた。即ち、添加速度0.3[cc/min]以下の場合ではA晶が、0.3から1.4[cc/min]ではA晶、BH晶の両方が、1.4[cc/min]以上ではBH晶が優先的に析出する傾向がみられる。

以上からチアゾール誘導体結晶の熱的安定性ならびに析出、転移挙動が明らかになった。また、晶析実験によりA、B晶の析出挙動は貧溶媒の添加速度に依存することが認められた。

以上が本研究で得られた結果の概要である。

## 目次

“In situ Observation of Growth Process of  $\alpha$ -L-Glutamic Acid with Atomic Force Microscope” -----

M.Kitamura and Onuma

J. Colloid. Interface Si., 224, 311-316(2000)

“Inclusion of amino acids and the effect on growth kinetics of L-glutamic acid” -----

M.Kitamura and T.Nakamura

Proc. Bradford International Workshop on Industrial Crystallization, 72-75  
(1999)

“Inclusion behavior of isomorphous impurities in crystallization of L-glutamic acid” -----

M.Kitamura and T.Nakamura

14th International Symposium on Industrial Crystallization,  
Cambridge(1999)

“チアゾール誘導体結晶多形の析出ならびに転移挙動” -----

北村光孝、中村慶一郎

化学工学会徳島大会 講演要旨集 SB-9 (1999)

“Crystallization and transformation behaviors of the polymorphs of thiazole derivative” -----

M.Kitamura and K.Nakamura

化学工学会第64年会 講演要旨集 O306(2000)

“Crystallization of polymorphs of thiazole derivative” -----

M.Kitamura

International Chemical Congress of Pacific Basin Societies;  
PACIFICHEM2000, Hawaii, ANYL 337(2000)