

トシル酸プラタスト結晶多形の物理化学的特性と
その結晶形の制御

2015 年

永井 啓子

目次

要旨.....	1
序論.....	4
本論.....	8
第一章 トシル酸スプラタスト結晶多形の物理化学的特性.....	8
第1節 結晶多形の調製.....	8
第2節 ST 結晶多形の物理的・化学的性質.....	11
第3節 リートベルト解析による ϵ 形及び η 形の構造推定.....	22
第4節 まとめ.....	28
第二章 結晶の均質性評価方法の開発と均質な α 形結晶の調製.....	29
第1節 トシル酸スプラタスト結晶多形の化学的安定性.....	29
第2節 結晶の均質性評価.....	36
第3節 均質性の異なる α 形結晶の調製.....	39
第4節 α -A, α -B 及び α -C 形の物性評価.....	40
第5節 α 形結晶構造の推定.....	46
第6節 まとめ.....	54
結語.....	56
謝辞.....	57
実験の部.....	58
参考文献.....	64
論文目録.....	69
主査, 副査名.....	70

要旨

【実験の背景及び目的】

固体医薬品の多くは活性医薬成分 (API) と製剤添加剤を用いて製剤化される。API はその結晶形の違いにより物理化学的性質が異なり、その結果、API の溶解速度、バイオアベイラビリティ、安定性及び生産性に影響を及ぼすことがある。従って、結晶多形の制御は製薬業界において重要な課題であり、供給する医薬品の品質を保証するためには、固体薬剤の物理化学的性質を評価することが必要である。

トシル酸スプラタスト [(±) - [2 - [4 - (3 - エトキシ - 2 - ヒドロキシプロポキシ) フェニルカルバモイル] エチル] ジメチルスルホニウム *p*-トルエンスルホネート] (ST) (Fig. 1, 1a) は、優れた IgE 抗体産生抑制作用を有し、種々のアレルギー性疾患の治療剤として有用である。本薬物はグリセロール誘導体であり、1

つの不斉炭素を有するため一組の光学対掌体が存在するが、ラセミ体として開発されている。

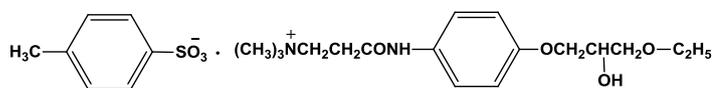
トシル酸スプラタストには3種類の異なる結晶形、すなわち結晶多形 (α , β 及び δ 形) が存在することが確認されている。これらの結晶形は本化合物の有する極めて特異な光学分割現象 (優先富化現象) の過程で発見されている。優先富化現象とは、ラセミ混晶 (ラセミ固溶体) の再結晶により発現する光学分割現象である。ラセミ体又はわずかにエナンチオマー比のずれた非ラセミ体の過飽和溶液から再結晶させると、母液中で一方のエナンチオマーの富化が起こり、母液と反対のキラリティを持つ低対掌体過剰率の非ラセミの結晶が析出する。優先富化現象の検討の一環として、再結晶溶媒や種晶の検討を行う中で、3種類の結晶多形に加えて新たに4種の結晶を発見した。

そこで本研究では、まず ST の7種類の結晶多形について、物性評価及び構造の推定を行った。

次に、結晶多形の中で最も安定であると結論づけた α 形結晶について、ミクロな構造を解明する目的で、 α 形結晶中に混在するホモキラルな結晶相 (非安定結晶相) を評価する分析方法 (HPLC 法) を開発した。この評価方法を用いることで、非安定結晶相を含まない均質な α 形の調製方法を検討した。最後に、非安定結晶相の存在が化学的安定性に及ぼす影響を考察した。



1a: R=C₂H₅, X=CH₃; 1b: R=C₃H₇, X=CH₃; 1c: R=C₂H₅, X=Cl



2

Fig. 1 Chemical structures of suplatast tosylate (1a), and suplatast tosylate analogs (1b, 1c, and 2).

Table 1 Preparation procedure of ST polymorphs.

	Preparation method
α -form (A-type)	Solution-mediate (Transformation ($\eta \rightarrow \alpha$))
α -form (B-type)	Recrystallization
α -form (C-type)	Recrystallization
β -form	Seeding ST enantiomer / Recrystallization
γ -form	Evaporation
δ -form	Seeding an analogous compound (1c)
ϵ -form	Seeding an analogous compound (2)
ζ -form	Seeding an analogous compound (1b)
η -form	Recrystallization

【実験方法】

・各結晶多形の調製: Table 1 に示した方法で各種結晶多形を調製した。

- ・物性評価：IR スペクトル，示差走査熱量測定 (DSC)，粉末 X 線回折 (PXRD)，固体 ^{13}C 核磁気共鳴スペクトル (NMR) により，7 種の結晶多形を評価した．更に， ϵ 形及び η 形結晶については PXRD の結果から，リートベルト解析により構造決定を行い，既知の α ， β 及び δ 形の結晶構造解析の結果と比較した．3 種の α 形結晶については，DVS (Dynamic Vapor Sorption) により，10%RH~80%RH の範囲での吸湿量の変化を測定した．
 - ・溶解度測定：2-プロパノール (35°C) に過剰量の各結晶多形を加え，飽和溶液中の ST の量を HPLC で測定した．測定後の試料の PXRD パターンを測定し，結晶形の転移の有無を確認した．
 - ・化学的安定性：各種結晶多形を 60°C で保管し，経時的にサンプリングを行い，分解物の生成量を評価した．
 - ・結晶の均質性の評価：2-プロパノール 0.50 mL に試料 0.25 g を加え，攪拌し，上清 1.0 μL を採取した．上清採取後の懸濁液にメタノールを加えて試料を溶かし，HPLC により上清及び溶液の対掌体過剰率*を測定した．懸濁上清と溶液の対掌体過剰率の結果から，結晶の均質性を評価した．
- *：対掌体過剰率 (% ee) = $([\text{S 体の量}] - [\text{R 体の量}]) / ([\text{S 体の量}] + [\text{R 体の量}]) \times 100$

【結果及び考察】

1. トシル酸スプラタスト結晶多形の物理化学的特性

PXRD パターンから，4 種の結晶は既存の結晶と異なる新規な結晶多形であることが確認された．DSC 測定の結果， α 形と γ 形の融点はそれぞれ 86.7°C，86.5°C と比較的高い値を示し，これらの結晶が比較的安定な結晶であると推定された． ϵ ， δ 及び ζ 形結晶は ST の類似化合物結晶 (Fig. 1; 1b, 1c, and 2) を添加することにより調製しているが，これらは比較的低い融点を示し，また，融点降下による幅広い吸熱ピークを示した．IR スペクトル及び固体 ^{13}C -NMR スペクトル測定により，ST 結晶

中に水素結合が存在する可能性を評価した結果， ϵ 形のカルボニル基は水素結合をしていないこと， ζ 形ではカルボニル基が水素結合していることが推測された． ϵ 及び η 形の結晶構造は，PXRD データ

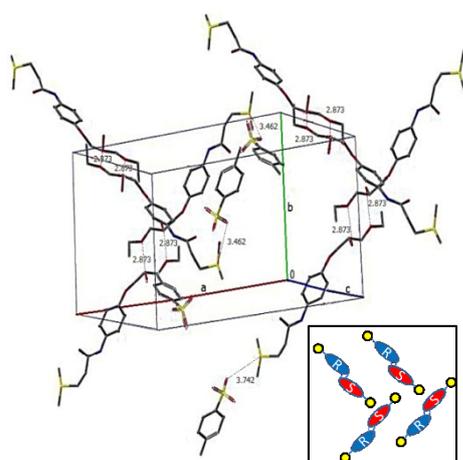


Fig. 2 Molecular arrangement in ϵ -form of suplatast tosylate.

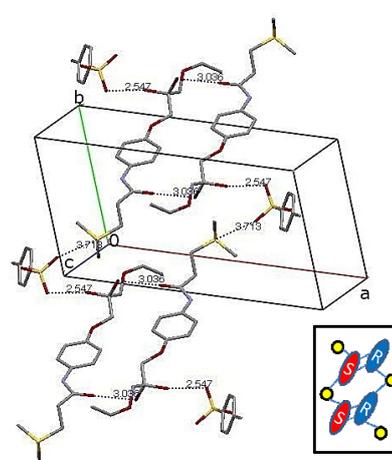


Fig. 3 Molecular arrangement in η -form of suplatast tosylate.

を用いて直接空間法とモンテカルロ法を組み合わせたリートベルト解析から決定された (Fig. 2, Fig. 3)．得られた結晶構造は，IR 及び固体 ^{13}C -NMR スペクトルから導かれた水素結合に関する結果を支持した．2-プロパノール中での溶解度測定の結果， α 形結晶が最も低い溶解度を示したことから，7 種の結晶多形の中で α 形結晶が最安定形であると考察した．

2. 結晶の均質性評価方法の開発と均質な α 形結晶の調製

各結晶多形の 60°C における化学的安定性を評価した結果， α 形は溶解度等の結果から熱力学的には最安定形と推測されたにも拘わらず，他の結晶形よりも化学的安定性が劣っていた． α 形結晶は優先富化現象という特異な光学分割現象を示すことが確認されている．優先富化現象を示す化合

物の場合、過飽和溶液の母液中でRまたはSエナンチオマーが富化するため、この現象を応用してラセミ体の光学分割が行われている。α形結晶中に優先富化現象の過程で生成した非安定結晶相が混在し、結晶の一部が不均質となったことが、化学的安定性が劣った原因と推測した。優先富化現象のメカニズムから、α形結晶中に混在している非安定結晶相は溶解性が極めて高く、非安定結晶相を含むα形結晶に溶解性の低い溶媒を少量添加した場合、非安定結晶相が優先的に溶解し、懸濁上清の対掌体過剰率はプラス又はマイナス大過剰に傾くものと予測した。以上の仮定のもと、結晶の懸濁上清の対掌体過剰率を測定することで結晶の均質性を評価する方法を開発した。結晶の均質性が60°Cにおける化学的安定性に及ぼす影響を調べるため、調製法を変えて3種類のα形結晶を調製した(α-A形、α-B形及びα-C形)。得られた3種のα形結晶の物理化学的性質を評価した結果、DSC、DVS及び懸濁上清中の対掌体過剰率において3種の結晶間で差が認められた。特に懸濁上清中の対掌体過剰率において、差が顕著であった。化学的安定性との関連では、懸濁上清の対掌体過剰率が低いα形結晶ほど化学的安定性に優れる結果を示した。

α形結晶中に混在する非安定結晶相は、PXRD及びIRでは検出不能であったが、本検討で開発した方法により、結晶の懸濁上清を測定することで結晶の均質性の評価が可能となった。懸濁上清の対掌体過剰率の結果から、α-A形は規則性の高い均質な結晶、α-B形は不規則な構造を一部に有する結晶、α-C形は不規則な構造を一部に有する結晶と非安定結晶相の混合物であり、その均質性の違いが化学的安定性に影響すると推測した(Fig. 4)。また、α-A形が化学的安定性に優れる結晶であったことから、非安定結晶相を含まない均質なα形結晶の調製方法として、η形結晶からの溶媒媒介転位を利用する方法が適切であると判断した。このように結晶化の条件を変えることで、均質性の異なる結晶が調製可能であることが示された。

【結論】

種々の方法により結晶多形を調製し、その物性を評価した結果、α形結晶が最安定形であった。一方、α形結晶中にIRやPXRDで検出されない非安定結晶相が存在し、その混在により化学的安定性が劣る結果を示すことが明らかとなった。続いて、STのα形結晶で確認される優先富化現象をもとに、懸濁上清の対掌体過剰率から結晶の均質性を評価する方法を開発した。結晶化の調製方法を変えることにより、均質性の異なるα形結晶の調製が可能となり、均質性の異なるα形結晶のうち、最も均質なα形結晶は予測通り化学的安定性に優れていた。以上の検討結果から、均質なα形結晶はST結晶の中で最安定結晶であると結論付けられた。

【参考文献】

1. Nagai K, Ushio T, Miura H, Nakamura T, Moribe K, Yamamoto K. 2014. Four new polymorphic forms of suplastast tosylate. *Int. J. Pharm.* 460, 83–91.
2. Nagai K, Ushio T, Miura H, Moribe K, Yamamoto K. 2015. Effect of enantiotropic uniformity of polymorphic crystals on the chemical stability of suplastast tosylate. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 27, 37–45.

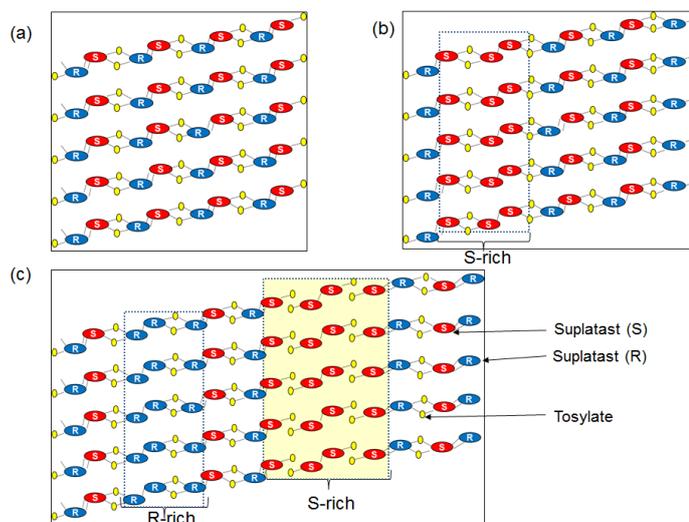


Fig. 4 Estimated structures of various α-forms of ST. (a) α-A type, (b) α-B type, and (c) α-C type

序論

同一化合物の固体状態での結晶構造が異なる現象を多形と呼ぶ。結晶化時の温度、過飽和溶液への類似化合物の接種、不純物や添加物を添加するなど結晶化条件を変えることにより、望ましくない結晶多形の核形成や結晶成長を阻害し目的とする結晶を得ることができる^{1,2)}。結晶多形は多くのAPI（活性医薬成分）に存在する。結晶形の違いにより物理的・化学的性質が異なるため、APIの結晶形はバイオアベイラビリティ、溶解速度、安定性及び生産性に影響を与えることがある³⁻⁷⁾。医薬品の多くはAPIと製剤添加剤を用いて製剤化されるため、結晶多形の制御は製薬業界において重要な課題となっている。

固体製剤の物理的・化学的評価方法については、示差走査熱量測定（DSC）、赤外（IR）分光法、顕微鏡法、粉末X線回折（PXRD）、ラマン分光法、固体NMRを用いた多数の研究が報告されている^{8,9)}。結晶多形の多くは、これらの分析技術を用いて同定することができるが、一部の多形は依然として同定することが困難である。結晶構造は結晶多形に関する情報として最も重要である。X線結晶構造解析を行うために単結晶の調製が必要とされるが、準安定結晶では単結晶の調製が難しく、その結果、準安定結晶の結晶構造を決定することが困難な場合がある。単結晶が得られない場合、粉末X線回折データから構造を解析する方法が開発されているが¹⁰⁻¹⁶⁾、いくつかの制限があるため、適用出来ない結晶もある。

結晶多形は分子が異なったパターンで配列しているため、多形間で反応性や化学的安定性に変化が生じる。例えば、抗がん剤の候補化合物であるFenretinideは多形間で安定性が異なることが確認されている。Fenretinideのバルク製品では結晶多形であるI形とII形の混合物が高い頻度で含まれることが確認されている¹⁷⁾。さらに、凍結乾燥

により得られる非晶質固体は結晶に比べ、分子状態は無秩序になっているため、反応性が高く、化学的安定性に優れないことが多い。Rajjada らは antiplatelet drug (抗血小板凝集薬) である Clopidogrel bisulphate の非晶質と 2 種類の結晶多形 (I 形及び II 形) について固体状態での苛酷試験を行い、酸及びアルカリが存在しない状態では、アモルファスは他の結晶よりも 40%以上分解量が多いことを示した¹⁸⁾。

トシル酸スプラタスト (ST) [(±)-2-[4-(3-エトキシ-2-ヒドロキシプロポキシ)フェニルカルバモイル]エチル]ジメチルスルホニウム *p*-トルエンスルホネート]は、優れた IgE 抗体産生抑制剤であり、50 mg 及び 100 mg を含有するカプセル剤及び 5% ドライシロップ剤 (アイピーディ) として、気管支喘息、アトピー性皮膚炎、通年性鼻アレルギーに適用されている¹⁹⁻²¹⁾。ST は、キラル炭素原子を有するグリセロール誘導体であり、1 つの不斉炭素を有するため一組のエナンチオマーが存在するが、ラセミ体として市販されている。

ラセミ体には R 体と S 体の 2 種類のエナンチオマーがあり、 図 1 に示したようにラセミ混合物、ラセミ化合物及びラセミ固溶体の 3 種類が存在することが知られている²²⁾。ラセミ混合物は単結晶の一つ一つは単一のエナンチオマーからなり光学活性を示すが、結晶全体として両エナンチオマーの比が 1:1 となるため、結晶全体としては光学的に不活性である。ラセミ化合物は一つ一つの単結晶が対をなした両エナンチオマーであるため光学的に不活性である。キラルな有機化合物の 2 つのエナンチオマーが任意の割合で混ざりあったラセミ体の結晶をラセミ固溶体と呼ぶ。ラセミ固溶体は一つの単結晶の中に両エナンチオマーが不規則に配列して結晶化するため、一つ一つの単結晶に存在する両エナンチオマーの比は一定ではないが、結晶全体としては光学的に不活性となる。ラセミ体の存在比は、ラセミ混合物がラセミ体全体の 10%以下、

ラセミ化合物が 90%，ラセミ固溶体は稀とされている²²⁾。なお，ラセミ固溶体には規則性の高い結晶や無規則なものなど多くのタイプがあることが報告されている²³⁾。

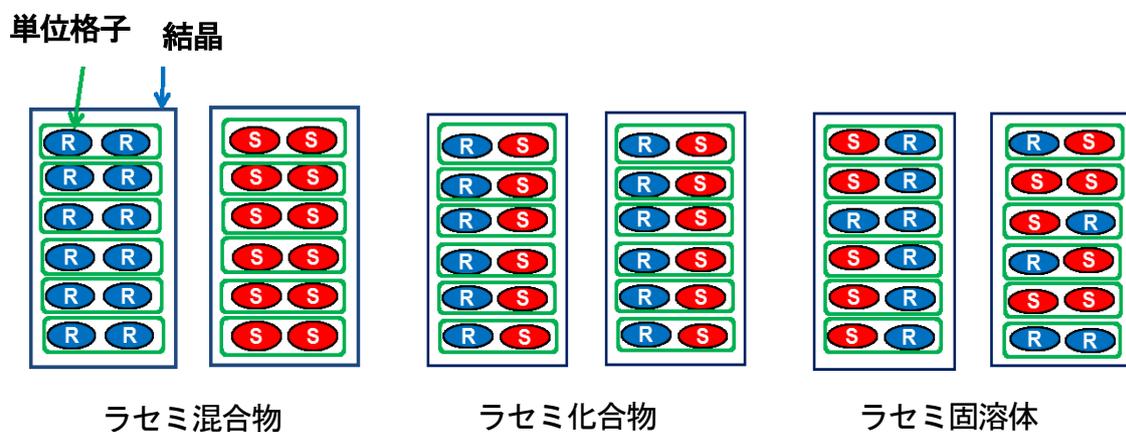


図 1 ラセミ体の結晶形態.

ST 及び類似化合物のラセミ体についても，ラセミ固溶体が存在することが確認されている。生塩らは ST ラセミ固溶体の極めて特異な光学分割現象（優先富化現象）について，田村らは，ST 及び類似化合物の光学分割のメカニズムについて報告している。優先富化現象とは，ラセミ固溶体の再結晶により発現する光学分割現象である。ラセミ体又はわずかにエナンチオマー比のずれた非ラセミ体の過飽和溶液から再結晶させると，母液中で一方のエナンチオマーの富化が起こり，母液と反対のキラリティを持つ低対掌体過剰率の非ラセミ体の結晶が析出する²⁴⁻²⁷⁾。ST には既知の三種の結晶多形（ α ， β ，及び δ 形）があり，これらの結晶の構造は決定済みである²⁸⁻³⁰⁾。

本研究ではトシル酸スプラタスト結晶多形の物理化学的特性とその結晶形の制御について検討を行った。まず，第一章では再結晶法及び ST の類似化合物を接種する方法により 4 つの新しい結晶多形（ γ ， ϵ ， ζ ，及び η 形）を調製し，既知の 3 種とあわせて 7 種の結晶多形について，DSC，IR，固体 NMR 分光法，及び PXRD により物理的

化学的性質を評価した。また、新規結晶多形の溶解度を測定し、既知の3種の結晶多形の溶解度と比較した。第二章ではST結晶多形の化学的安定性を評価した。化学的安定性と溶解度の値が矛盾する結果に対し、ST及び類似化合物のラセミ体で確認される優先富化現象という特異な光学分割現象に着目した。 α 形結晶中の非安定結晶相の評価方法を開発し、均質性の異なる α 形結晶の構造について考察した。

本論

第一章 トシル酸プラタスト結晶多形の物理化学的特性

第1節 結晶多形の調製

STは3種類の結晶多形が存在することが知られており²⁸⁻³⁰⁾、これらの結晶形は本化合物の有する極めて特異な光学分割現象である優先富化現象の研究過程で発見されている。

本研究では、優先富化現象の検討の一環として、再結晶溶媒や種晶の検討を行う中で、3種類の結晶多形に加えて新たに4種の結晶 (γ , ε , ζ , 及び η 形) を発見した。

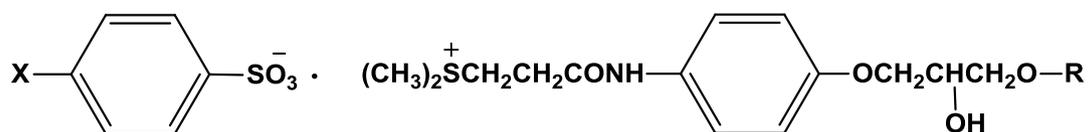
表1に示したように γ 形はスラリー状となったSTのクロロホルム溶液からクロロホルムを蒸発させる方法、 η 形は水/アセトン混液からの再結晶により調製した。最初に調製した η 形は α 形を種晶として調製し、ここで出来た α 形と η 形結晶の混合物を種晶として、純粋な η 形結晶を調製した。

ε 形と ζ 形については、ST (図2, 1a) の2-プロパノール溶液に図2に示した類似化合物 (1b 及び2) を種晶として添加することにより調製した。 γ 形はSTの類似化合物 ((-)-ベンゼンスルホン酸プラタスト) を接種する方法でも調製可能であった。

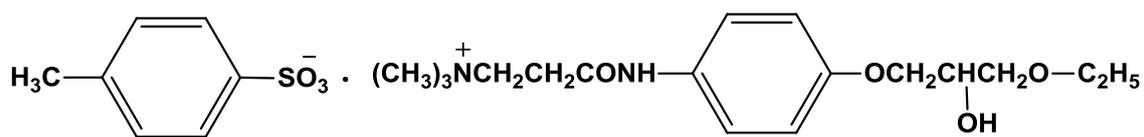
表 1 ST 結晶多形の調製方法.

	States	Preparation method	Solvent
α -form	Known	Recrystallization	Ethanol/ Isopropyl ether (anti-solvent)
β -form	Known	Seeding ST enantiomer	2-Propanol
		Recrystallization	Acetone
<u>γ-form</u>	<u>New</u>	<u>Evaporation</u>	<u>Chloroform</u>
δ -form	Known	Seeding an analogous compound (1c)	2-Propanol
<u>ε-form</u>	<u>New</u>	<u>Seeding an analogous compound (2)</u>	<u>2-Propanol</u>
<u>ζ-form</u>	<u>New</u>	<u>Seeding an analogous compound (1b)</u>	<u>2-Propanol</u>
<u>η-form</u>	<u>New</u>	<u>Recrystallization</u>	<u>Mixture of acetone/water</u>

*新規に調製した結晶を下線で示した.



1a: R=C₂H₅, X=CH₃; 1b: R=C₃H₇, X=CH₃; 1c: R=C₂H₅, X=Cl



2

図 2 トシル酸スプラタスト及び類似化合物の構造.

類似化合物を添加することにより、結晶多形の制御を行った例がこれまでに報告されており、黒田らは6-メルカプトプリンに約5%の類似化合物を添加することにより、他の公知の結晶形よりも溶解度が6~7倍高い新規結晶多形を発見したことを報告している³¹⁾。北村と石津は、L-フェニルアラニンの存在下でL-グルタミン酸の成長速度を調査し、結晶多形である α 形と β 形は、異なる成長速度を示すことを確認した³²⁾。Addadiらは、D-及びL-アスパラギン混合物の飽和溶液にエナンチオマーを少量添加することにより、D-及びL-アスパラギン混合物の分割に成功した³³⁾。これらのメカニズムとして、類似化合物が結晶表面に付着し、結晶成長を阻害したことが考えられている。STの ϵ , ζ 形結晶に関しても、種晶として添加した類似化合物が種となり、結晶が生成することにより、新たな結晶多形が生成したと考えられた。

第2節 ST 結晶多形の物理的・化学的性質

機器分析による結晶多形の物性評価

第1節で調製した ST 結晶の4種の新規結晶及び既知の3種の結晶多形について、物理化学的性質を評価した。7種の結晶多形のマイクロスコープによる観察結果を図3に示した。 α 形結晶は大きく堅い結晶、 β 、 δ 、及び ϵ 形結晶は比較的大きく、もろい結晶であった。 γ 及び ζ 形結晶は微細な結晶、 η 形結晶は針状結晶であった。

7種の結晶多形のPXRDパターンを図4に示した。 α 、 β 、及び δ 形のPXRDパターンは、文献に報告されたパターンと一致することを確認した。第1節で調製した4種の新規結晶のPXRDパターンは、既存の3種の多形のPXRDパターンとは全く異なっており、また新規結晶間のPXRDパターンも互いに異なっていた。これらの結果から4種の新規結晶が新規の結晶多形であることが示された。

少量の ST 類似化合物を種晶として添加することにより、結晶多形 (ϵ 及び ζ 形) が生成した。このように再結晶溶液に対し、0.5%未満の添加物により新しい結晶多形が調製できたことは注目に値するものである。

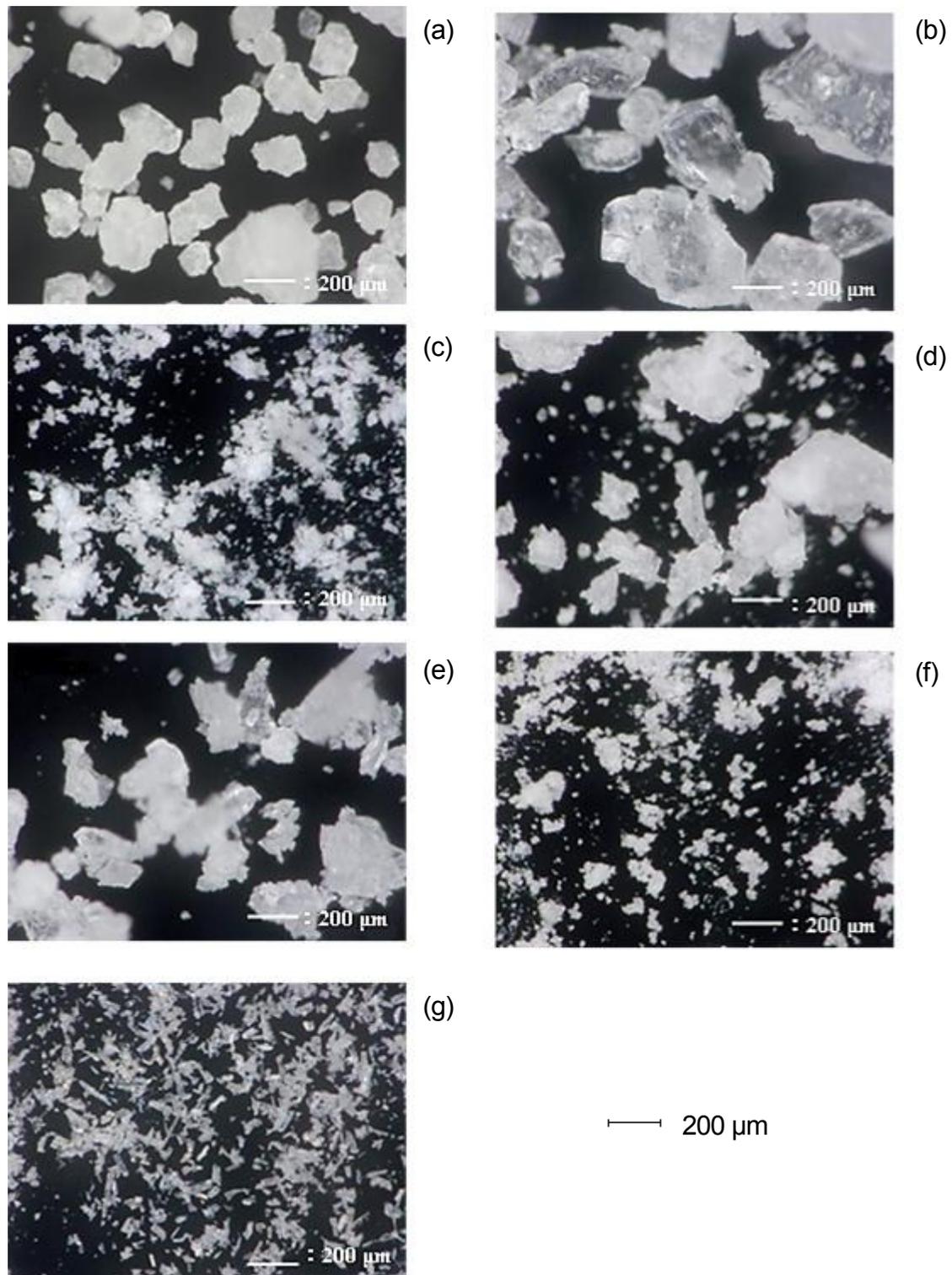


図 3 ST 結晶多形のマイクロ스코ープによる観察結果.

(a) α -form, (b) β -form, (c) γ -form, (d) δ -form, (e) ε -form, (f) ζ -form, and (g) η -form

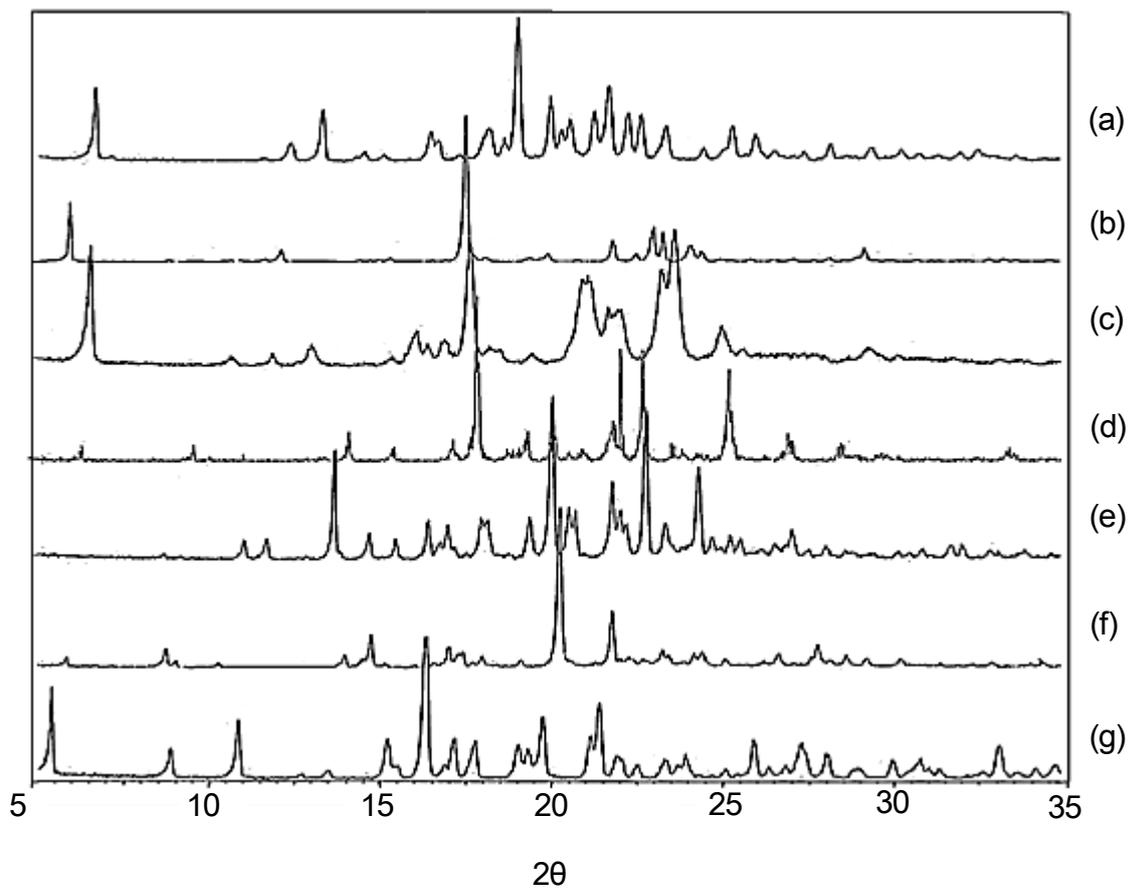


図 4 ST 結晶多形の PXRD パターン.

(a) α -form, (b) β -form, (c) γ -form, (d) δ -form, (e) ε -form, (f) ζ -form, and (g) η -form

STの7種の結晶多形のDSCの測定結果を図5に示した。各結晶は、75~87°Cの間で融解による吸熱ピークを示した。 α 形と γ 形のDSCによる融点は86.7°C及び86.5°Cであった。これらの高融点を示した結晶は、空間的に安定した分子配列を持っていると考えられた。一方で δ 、 ϵ 、及び ζ 形は低融点であることから、準安定結晶であることが示唆された。さらに、STの類似化合物を種晶として接種して調製した結晶(δ 、 ϵ 、及び ζ 形)では、幅広い吸熱ピークを示した。融解熱量は η 形が最も高く、39.6 kJ/molであり、最低は ζ 形で23.2 kJ/molだった。

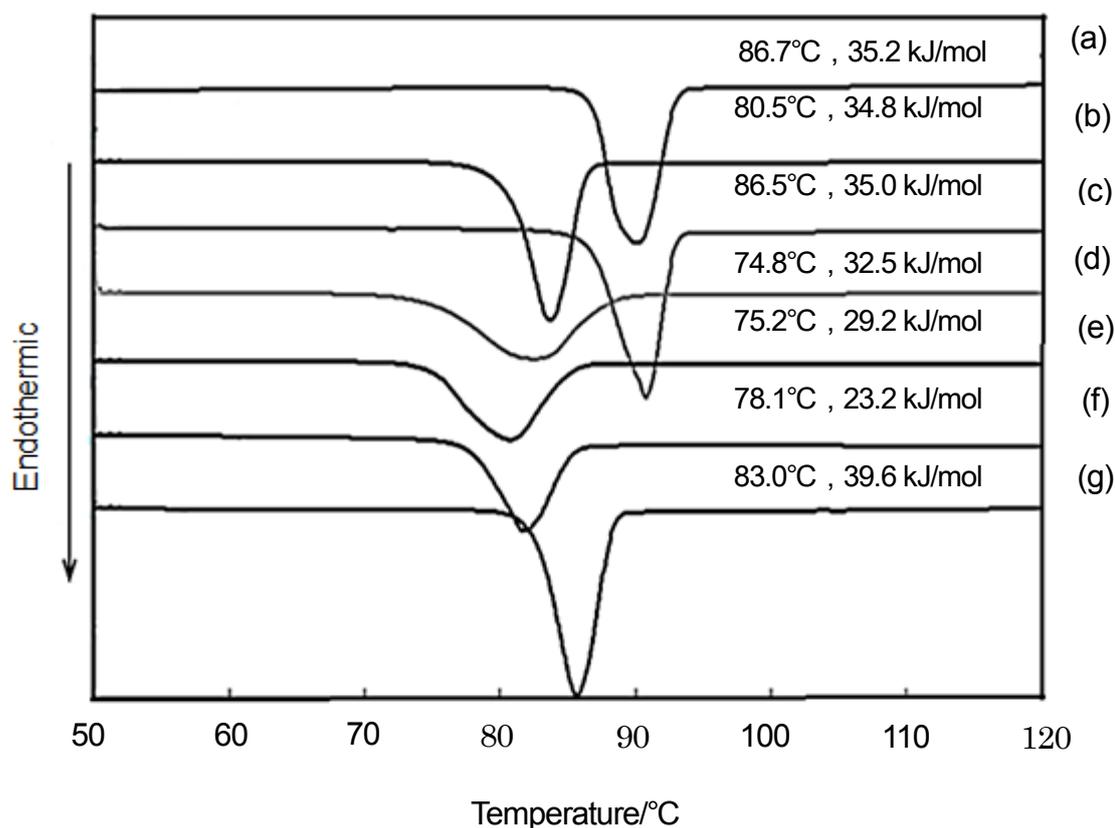


図5 ST結晶多形のDSC曲線.

(a) α -form, (b) β -form, (c) γ -form, (d) δ -form, (e) ϵ -form, (f) ζ -form, and (g) η -form
Melting point (onset temperature) and the heat of fusion are shown in each figure.

ST 結晶多形の IR スペクトルを図 6 に示した。バルビツール酸誘導体、スルホンアミド及びシュウ酸などの多くの化合物において、水素結合の様式の違いにより結晶多形が生成することが知られている³⁴⁻³⁶。構造既知の結晶多形 (α , β , 及び δ 形) では、 α 形のカルボニル伸縮振動は 1664 cm^{-1} であり、 β 形と δ 形のカルボニル伸縮振動はそれぞれ 1678 と 1684 cm^{-1} であった。 α 形結晶は単結晶構造解析の結果から、カルボニル基が鏡像体の水酸基と水素結合しているが、 β 形と δ 形はカルボニル基が水素結合をしないため、カルボニル伸縮振動の波数が α 形と異なるものと考察した。

構造既知の結晶の IR スペクトルとの比較から ST の 4 種の新規結晶多形中の水素結合の存在を推測した。 ζ 形のカルボニル伸縮振動は、 1658 cm^{-1} であり、プロトン供与基との水素結合の存在が予想された。 ε 形ではカルボニル伸縮振動は 1682 cm^{-1} であり、水素結合していないことが予想された。 γ 及び η 形はそれぞれ 1675 と 1672 cm^{-1} にカルボニル伸縮振動を示した。 γ 形と η 形に関しては、IR のデータからは、結晶中の水素結合の形成を評価するために有用な結果は得られなかった。

次に $3300\sim 3500\text{ cm}^{-1}$ 付近の吸収の差に着目した。一般に、水素結合をしていない OH 基と NH 基はそれぞれ $3600\sim 3700\text{ cm}^{-1}$ と $3400\sim 3500\text{ cm}^{-1}$ に強度の強いシャープな吸収を示す。 η 形以外の ST の結晶多形では、 $3400\sim 3500\text{ cm}^{-1}$ 付近に幅広い吸収を示したことから、複数の水素結合が存在することが示唆された。 η 形結晶は 3495 cm^{-1} に鋭い吸収を示したことから、NH 基の大部分が水素結合をしていないことが予想された。 ε 及び ζ 形は 3500 cm^{-1} 付近に幅広い吸収を示した。一部の NH 基の吸収が重なり 3500 cm^{-1} 付近に幅広い吸収を示しているものと推測された。

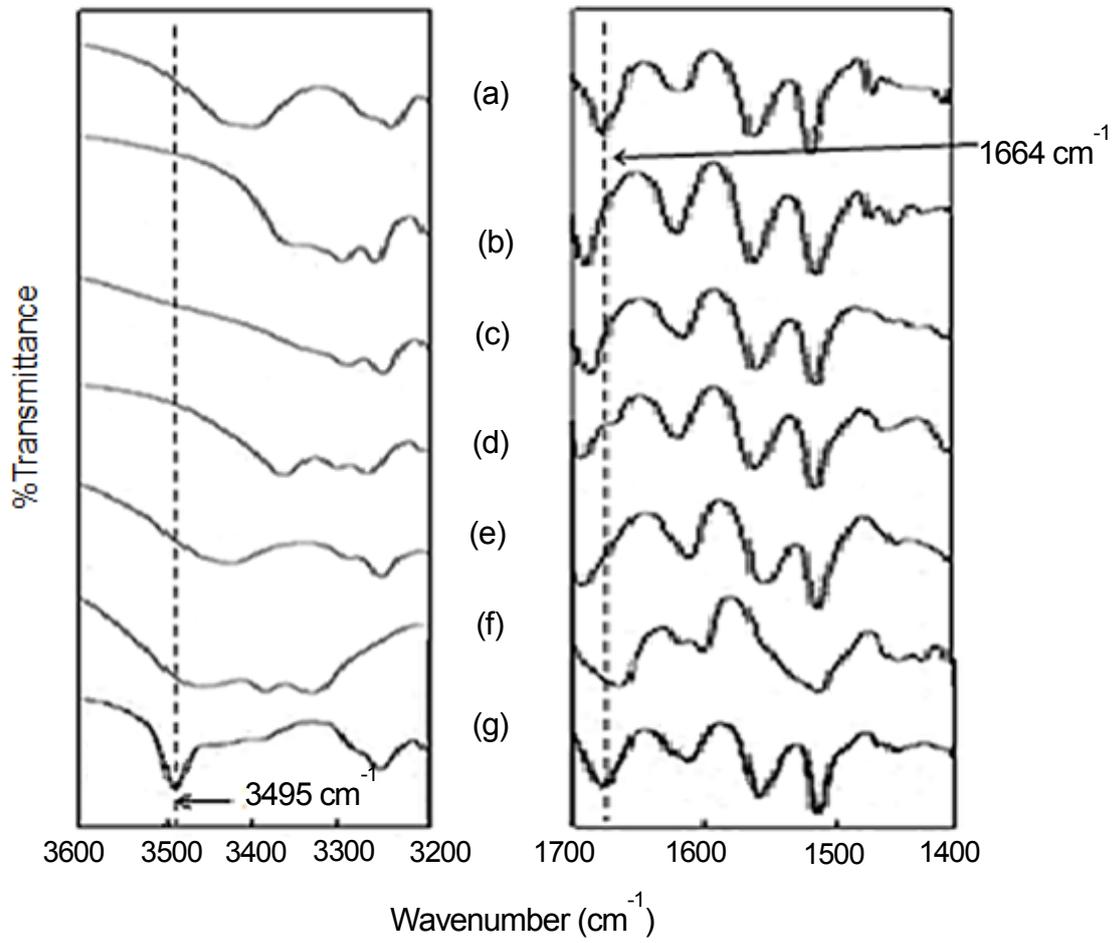


図 6 ST 結晶多形の赤外吸収スペクトル.

(a) α -form, (b) β -form, (c) γ -form, (d) δ -form, (e) ε -form, (f) ζ -form, and (g) η -form

固体 ^{13}C -NMR の結果を図 7 に示した。いずれの多形も 20-30 ppm 付近にジメチルスルホニウム基のメチル炭素に帰属されるシグナルを示し、これらのシグナルは多形間で異なっていた。次に、170 ppm 付近のカルボニル基由来のピークから、ST の新規結晶多形の水素結合の有無を予想した。 α 形は構造解析の結果からカルボニル基と水酸基が水素結合を形成しており、その場合カルボニル炭素の化学シフトは 170.0 ppm であった。一方、 β 及び δ 形のカルボニル基は、構造解析の結果から水素結合をしていないことが確認されている。その場合、固体 ^{13}C -NMR 測定によるカルボニル炭素の化学シフトは 167.9 と 166.7 ppm であった。

今回測定した ε 形のカルボニル炭素は化学シフトが 167.1 ppm であったことから、水素結合を形成していないことが予想された。 ζ 形のカルボニル炭素の化学シフトは、170.2 ppm に観測されたことから、 ζ 形のカルボニル基は水素結合していると推測された。 γ 及び η 形のカルボニル炭素の化学シフトは、それぞれ 169.1 及び 169.9 ppm であり、水素結合が存在する場合としない場合の中間の化学シフトを示した。 α 形の化学シフトに近い値であったことから、水素結合の可能性が予想されるものの、固体 NMR のみの結果からは判断できなかった。ST の結晶多形の物理化学的性質の結果を表 2 に要約した。以上の結果から、ST の 7 種の結晶多形は固体 ^{13}C -NMR スペクトルにより容易に識別できることが確認された。

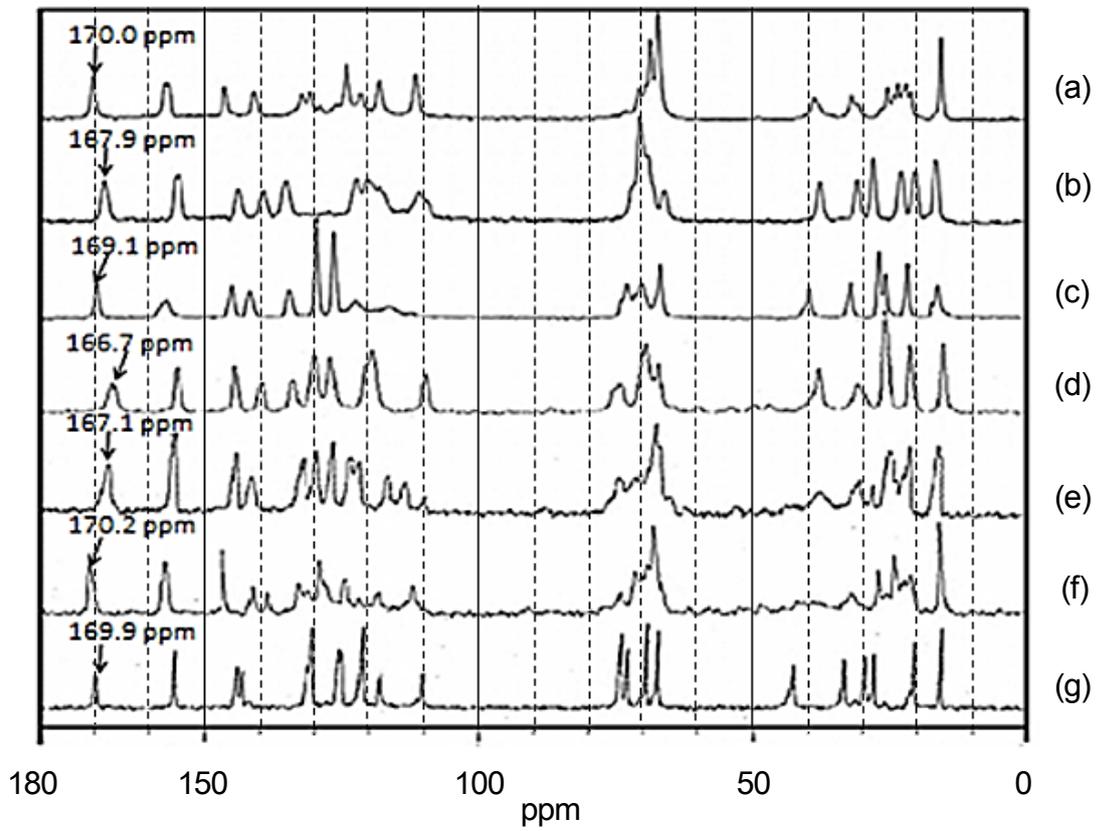


図 7 ST 結晶多形の固体 ^{13}C -NMR スペクトル.

(a) α -form, (b) β -form, (c) γ -form, (d) δ -form, (e) ε -form, (f) ζ -form, and (g) η -form

表 2 ST 結晶多形の物理的・化学的性質に関するまとめ.

	Preparation method	DSC		IR	NMR	Crystal structure
		Melting point (°C)	Heat of fusion (kJ/mol)	Stretching vibration of carbonyl band (cm ⁻¹)	Chemical shift of carbonyl group (ppm)	
α -form	a	86.7	35.2	1664	170.0	Already determined ²⁸⁾
β -form	a	80.5	34.8	1678	167.9	Already determined ²⁹⁾
γ -form	b	86.5	35.0	1675	169.1	-
δ -form	c	74.8	32.5	1684	166.7	Already determined ³⁰⁾
ϵ -form	c	75.2	29.2	1682	167.1	Rietveld refinement
ζ -form	c	78.1	23.2	1658	170.2	-
η -form	a	83.0	39.6	1672	169.9	Rietveld refinement

a : Recrystallization, b : Evaporation, c : Seeding an analogous compound

溶解度の検討

7種の結晶多形の熱力学的特性を評価するため、2-プロパノール中の溶解度を測定した(表3)。トシル酸スプラタストの水に対する溶解度はきわめて大きく(約1100 mg/mL, 20°C)、またラセミ体、S体及びR体の溶解度の間に差が認められなかった²⁵⁾。さらに2-プロパノールでは α 形と β 形で溶解度の差が認められたことから²⁵⁾、2-プロパノールを溶解度評価に使用した。溶解度の測定後、残存した結晶のPXRDを測定し、結晶形の変化を確認した。 α 、 β 、及び η 形では結晶形の変化は認められなかった。 δ 形では溶解度測定後の結晶の大部分は δ 形のままであったが、一部が α 形に転移していた。 ε 形は、結晶の大部分が溶解度測定中に α 形に転移し、 γ 形は溶解度測定後に完全に α 形に転移していることが確認された。 ζ 形は初期の溶解段階で非常に溶解度が高いことが判明したが、急速に α 形に変換されたため、 ζ 形の溶解度は評価できなかった。

35°Cでの結晶形の溶解度の順番は $\alpha < \beta < \gamma < \eta < \delta < \varepsilon$ であり、 α 形が最安定結晶であると予測された。 ε 形は見かけの溶解度が高く、 α 形のほぼ6倍の溶解度を示した。 γ 形は溶解度測定後、完全に α 形に変換していたため、 γ 形の正確な溶解度は不明であるが、2-プロパノール中35°Cにおいては、 ζ 形に次いで不安定な結晶であると予測された。ST結晶多形の相関図を図8に示した。

表 3 ST 結晶多形の溶解度測定結果 (2-プロパノール, 35° C) .

	Solubility (mg/mL) (Mean, n=2)	Polymorphic form after solubility determination
α -form	20.95	α
β -form	33.63	β
γ -form	35.87	α
δ -form	42.22	$\alpha < \delta$
ϵ -form	134.28	$\alpha > \epsilon$
ζ -form	73.62*	α
η -form	40.17	η

*: ζ -form was rapidly transformed to the α -form while measuring solubility.

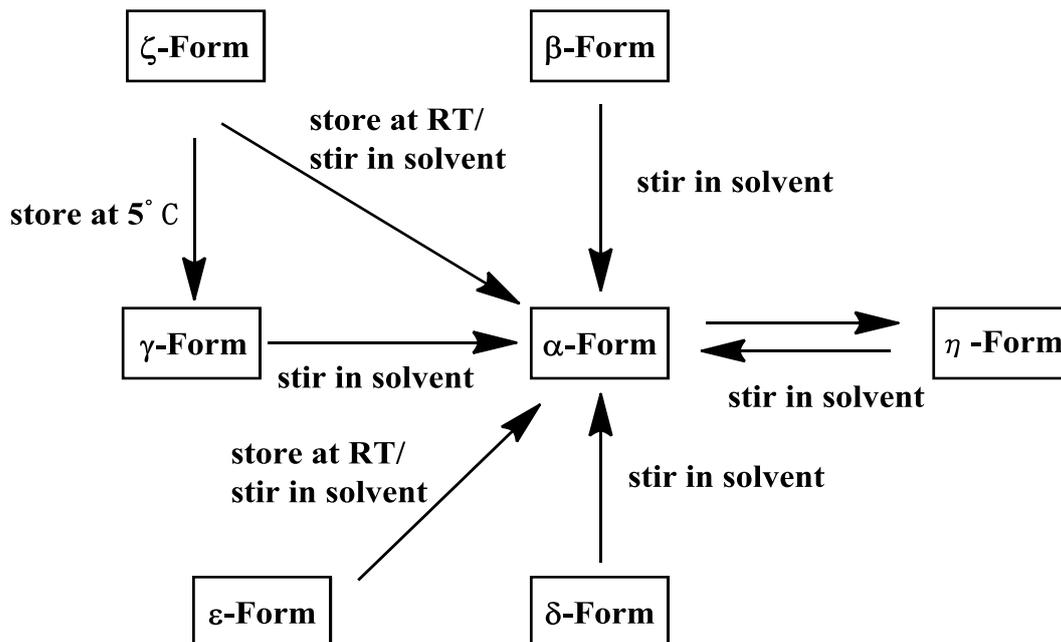


図 8 ST 結晶多形の相関図.

第3節 リートベルト解析によるε形及びη形の構造推定

α, β, 及びδ形の結晶構造は既知であり^{28,29,30)}, 本研究ではε及びη形結晶についてPXRDデータから直接空間法を用いて結晶構造解析を行った(表4). モンテカルロ法による計算を2サイクル実施した後, Rietveld Refinementを行ったところ, Rwp値は23%以下に収束した. 各結晶の構造分子配列を図9及び図10, 実測値と計算値の回折パターンの差を図11及び図12に示した.

ε形結晶は, 単斜晶系であり, 既知のST結晶多形の構造とは異なっていた. この結晶は, 等量の2つのSTのエナンチオマー(P21/C, Z=4)で構成され, α及びδ形と同様に対称中心を有していた. ε形のR及びS体ではδ形と同様に, 水酸基とエトキシ酸素原子との間に水素結合が確認された(O··Oの距離: 2.873Å). また, ε形は他のST結晶多形と異なり, アミド基の水素とスルホン酸の酸素イオンが水素結合しない特有の空間分子配列を有することが確認された. この結果はIRスペクトルから得られた結果と一致していた.

η形結晶の構造はα形結晶の構造と類似しており, 中心対称空間群P-1の単位格子(Z=2)中にR及びS体のラセミの混合物が構成されていた. R及びS体において, 一部の水酸基とカルボニル酸素の間に水素結合(O··O: 3.036Å)を形成した. この結果はα形と類似しており, β及びδ形とは異なる構造であった. さらに, η形結晶の構造中の水酸基の一部が, β形と同様に, スルホン酸基の酸素と水素結合していることが確認された(O··O: 2.547Å). このようにη形では一部矛盾した構造解析の結果を示したことから, η形結晶の水酸基の一部は無秩序であり, 遊離カルボニル基が存在することが推定された.

以上のように、 ϵ 及び η 形結晶について IR 及び固体 ^{13}C -NMR スペクトルから推定した結果がリートベルト解析により得られた分子配列の結果を支持するものであった。 γ 及び ζ 形の結晶構造解析も試みたが、測定中に α 形に転移し、構造決定は出来なかった。 γ 及び ζ 形の結晶構造解析は引き続き検討を行う方針である。

表 4 ST 結晶多形の結晶データ.

Cell parameters	α -form	β -form	δ -form	ϵ -form	η -form
Chemical Formula	$\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{NS}_2\text{O}_7$	$\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{NS}_2\text{O}_7$	$\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{NS}_2\text{O}_7$	$\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{NS}_2\text{O}_7$	$\text{C}_{23}\text{H}_{33}\text{NS}_2\text{O}_7$
Formula weight	499.65	499.65	499.65	499.65	499.65
Sample type	Single crystal	Single crystal	Powder	Powder	Powder
crystal system	triclinic	triclinic	triclinic	monoclinic	triclinic
space group	P-1	P1	P1	P21/c	P-1
a, Å	14.89	10.75	9.90	21.38	16.66
b, Å	15.67	15.67	15.03	12.04	10.36
c, Å	12.44	8.23	8.91	10.76	7.62
α , deg	100.17	100.50	98.24		78.18
β , deg	104.65	108.47	90.28	115.32	97.47
γ , deg	108.73	85.51	108.15		101.59
V, Å ³	2550.6	1288.0	1242.0	2503.5	1255.4
Z	4	2	2	4	2
Rp ^{*1} , Rwp ^{*2}	0.063, 0.081	0.044, 0.047	0.147, 0.190	0.146, 0.190	0.167, 0.226
Ref	28)	29)	30)	-	-

*1 $R_p = [\sum |cY^{\text{sim}}(2\theta_i) - I^{\text{exp}}(2\theta_i) - Y^{\text{back}}(2\theta_i)| / \sum I^{\text{exp}}(2\theta_i)]$.

*2 $R_{wp} = [(\sum w_i (cY^{\text{sim}}(2\theta_i) - I^{\text{exp}}(2\theta_i) - Y^{\text{back}}(2\theta_i))^2 / \sum w_i (I^{\text{exp}}(2\theta_i))^2]^{1/2}$.

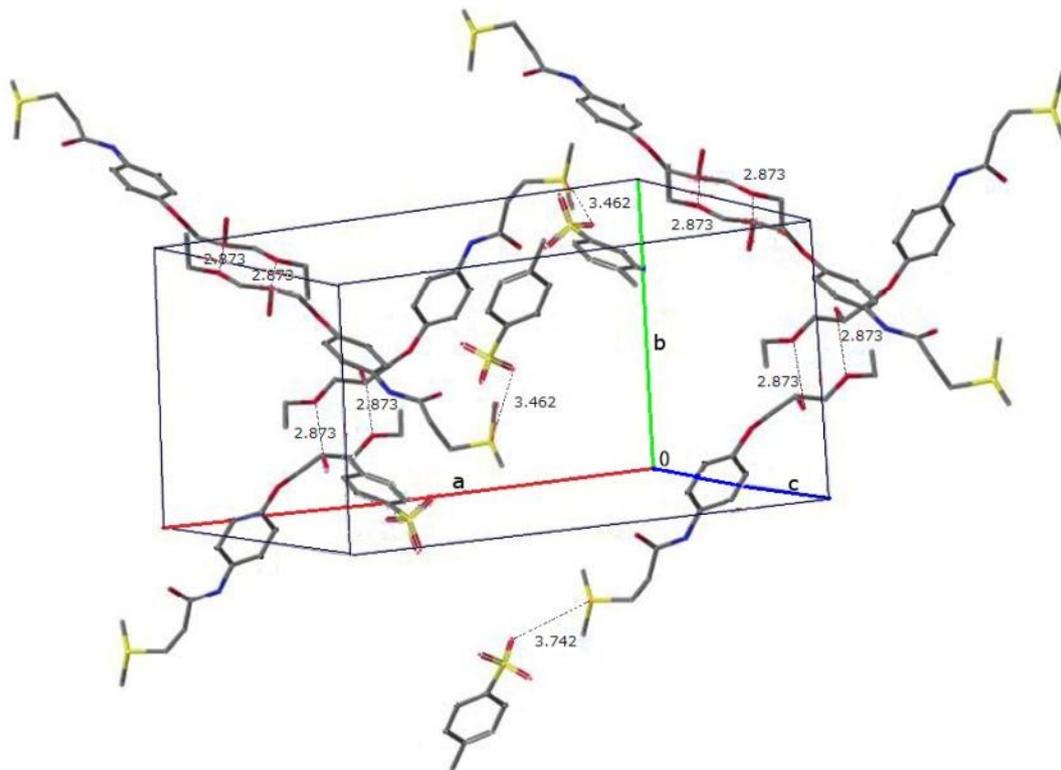


図 9 ϵ 形結晶の分子配列.

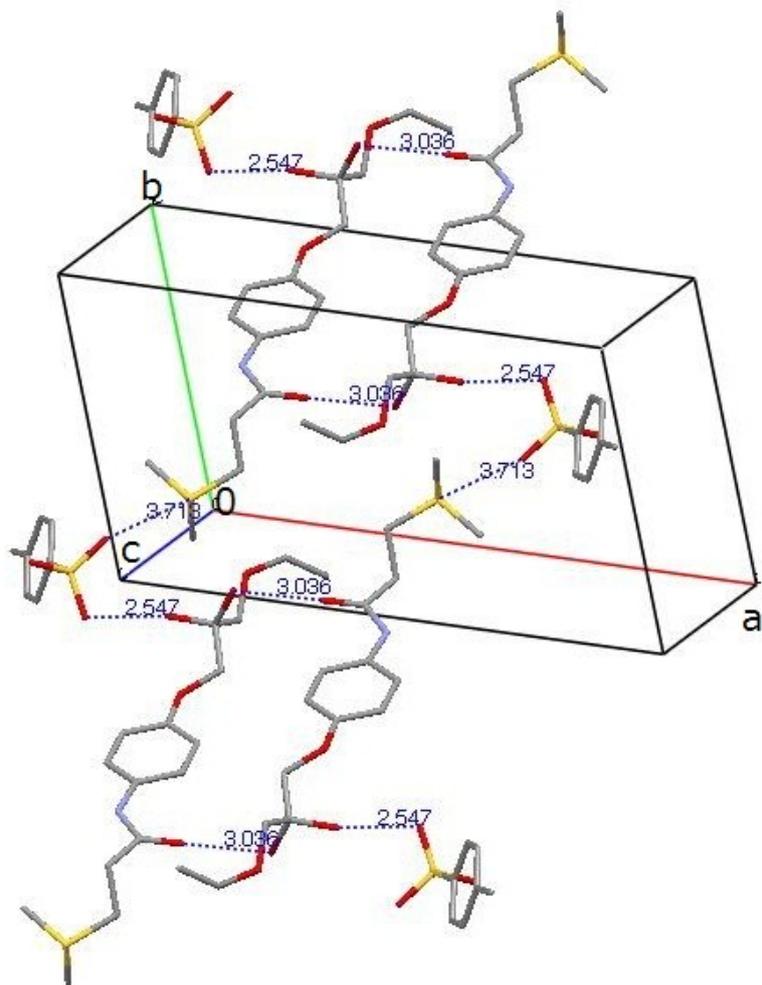


図 10 η 形結晶の分子配列.

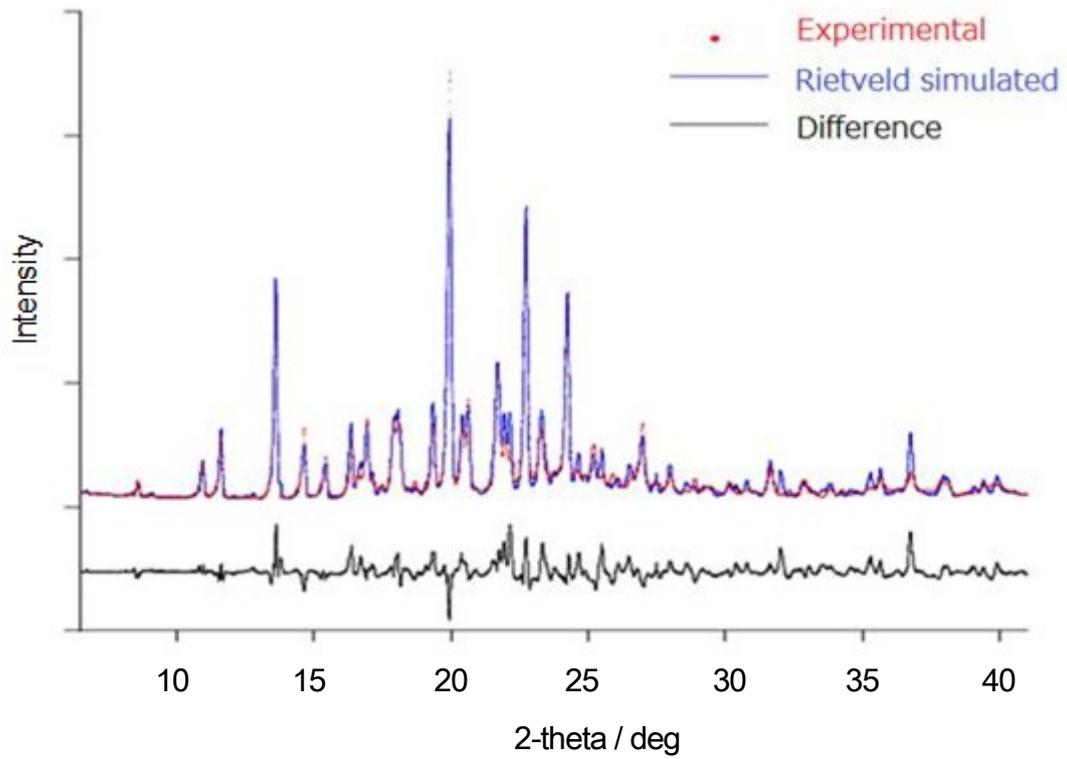


図 11 ϵ 形結晶の Rietveld Refinement による XRD プロファイルの比較.

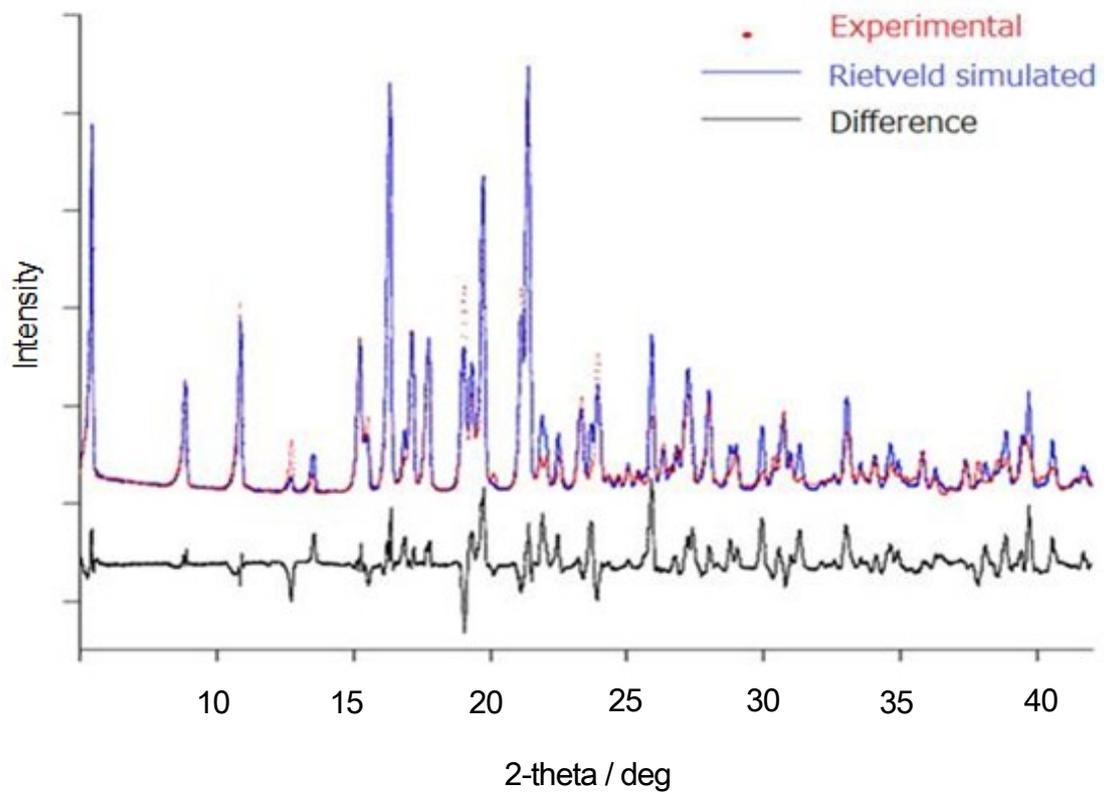


図 12 η 形結晶の Reitveld Refinement による XRD プロファイルの比較.

第4節 まとめ

再結晶法及びSTの類似化合物を種晶として接種することにより、STの4種の新規結晶多形(γ , ε , ζ , 及び η 形)を調製した。これらの結晶の物理化学的特性について、DSC, IR, 及び固体 ^{13}C -NMR分光法及びPXRDを用いて評価した。PXRDパターンから、新規の結晶は既存の結晶と異なり、また、新規結晶同士が互いに異なった結晶形であることが確認された。

α 形と γ 形結晶はDSCにおいて、 86.7°C , 86.5°C と高い融点を示し、比較的安定な結晶であることを示した。 δ , ε , 及び ζ 形はSTの類似化合物の結晶を添加することにより調製しているが、これらの結晶は比較的融点が低く、また、幅広い吸熱ピークを示した。IRスペクトル及び固体 ^{13}C -NMRスペクトルから、STの4種の新規結晶多形の結晶内の水素結合の有無を評価した。 ε 形結晶のカルボニル基は水素結合をしていないこと、 ζ 形のカルボニル基は対照的に水素結合をしていることがスペクトルより推測された。

ε 及び η 形の結晶構造は、PXRDデータを用いて直接空間法とモンテカルロ法を組み合わせたリートベルト解析から決定した。 ε 形及び η 形について、IR, 固体NMRスペクトルから推定した結果とリートベルト解析により得られた分子配列の結果を比較し、矛盾のないことを確認した。

第二章 結晶の均質性評価方法の開発と均質な α 形結晶の調製

第1節 トシル酸スプラスタ結晶多形の化学的安定性

第1章では、7種 ($\alpha\sim\eta$ 形) のST結晶多形の物性評価を行い、溶解度等の結果から、 α 形結晶が最も熱力学的に安定な結晶であると結論した。医薬品の品質を保証する上でその化学的安定性は重要である。そこで60°CにおけるST結晶多形 (α , β , γ , 及び η 形) の化学的安定性を評価し、その結果を図13に示した。

β , γ , 及び η 形結晶は60°C, 3箇月間の保存で分解物が最大で0.18%増加したのみであった。一方 α 形結晶は、3箇月間の保存において分解物が1.6%増加し、最も不安定であった。また、 α 形はロット間で化学的安定性の結果にバラツキが認められた。主要な分解物は(±)-4-(3-ethoxy-2-hydroxypropoxy)acrylanilide 及び(±)-4-(3-ethoxy-2-hydroxypropoxy)-[3-(methylthio)propion]anilide であった。化学的安定性評価時の各サンプリングポイント (1, 2, 3 箇月) で、保存試料のPXRDを測定したが、保存前と比較して α 形結晶の結晶形に変化は認められなかった (図14)。

以上の結果より、第一章で α 形結晶は熱力学的に最安定結晶と推測されていたにも拘わらず、 β , γ 及び η 形結晶よりも化学的安定性に劣ることが明らかになった。

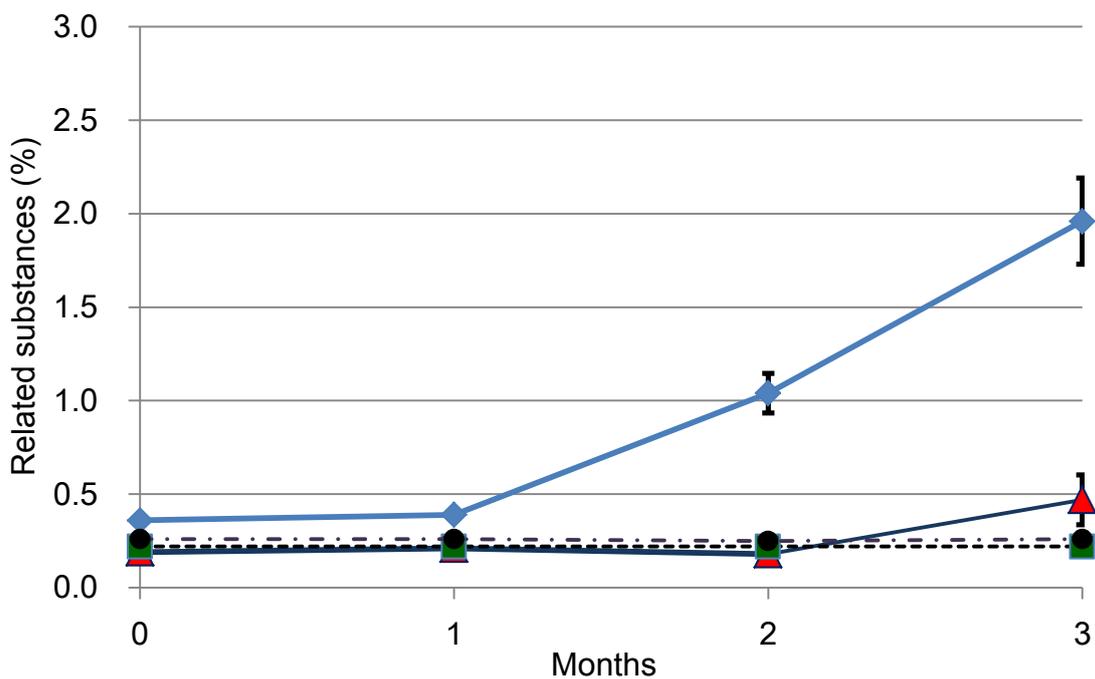


図 13 ST 結晶多形の化学的安定性 (60°C, 気密容器).

(a) α-form (α-C type) (◆), (b) β-form(▲), (c) γ-form(●), and (d) η-form(■)
n=3, mean ± S.D.

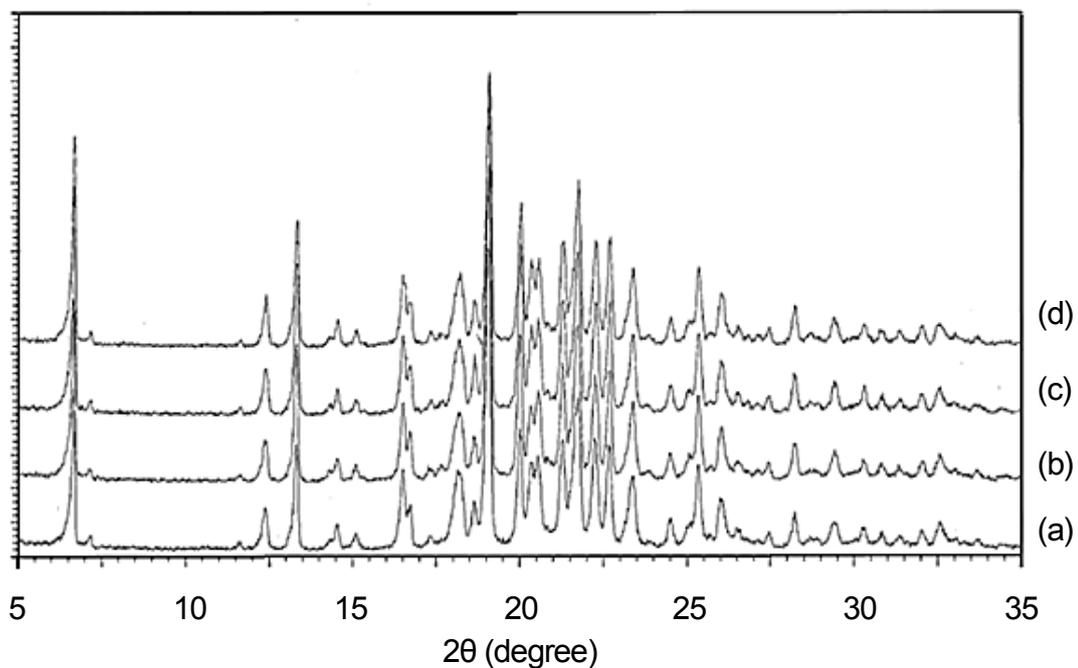


図 14 化学的安定性 (60°C) 評価時の α 形結晶の粉末 X 線回折パターン.

(a) Initial, after storage for (b) 1 month, (c) 2 months, and (d) 3 months

STは前述したようにラセミ体として開発されている。Pastuerが酒石酸アンモニウムナトリウムに二種類の結晶の存在を発見して以来、光学分割に関する研究が行われ、Grenzにより優先晶出法というラセミ混合物の光学分割法が確立された³⁷⁾。優先晶出法は過飽和溶液にエナンチオマー結晶を核として接種し、核と同種のエナンチオマーを結晶として単離する方法である(図15)。この光学分割法は工業化にも成功しているが、この方法を適用できるのはラセミ混合物に限られ、残りの90%以上を占めるラセミ化合物やラセミ固溶体については、再結晶による光学分割は不可能と考えられていた^{22,23)}。

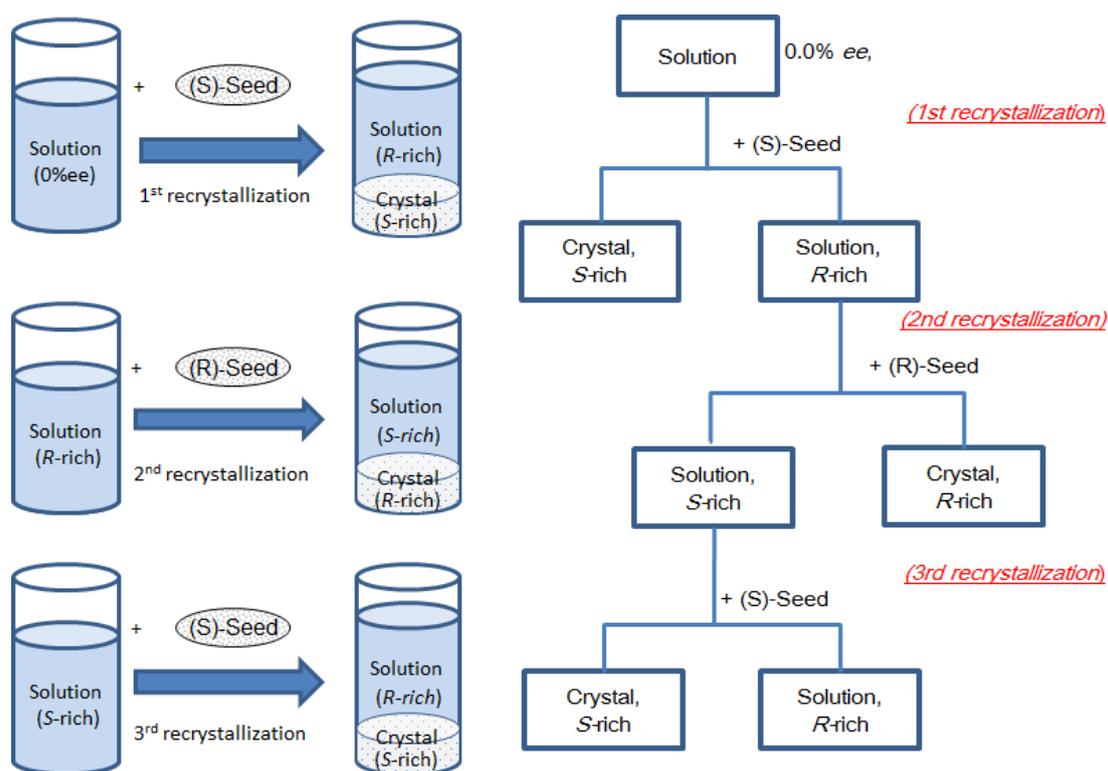


図 15 優先晶出法による光学分割.

ST及び類似化合物のラセミ体については、ラセミ固溶体が存在することが確認されており、生塩らや田村らによりSTラセミ固溶体の特異な光学分割現象やそのメカ

ニズムが報告されている²⁴⁻²⁶。優先富化現象ではラセミ体又はわずかにエナンチオマー比のずれた非ラセミ体の過飽和溶液から再結晶させると、母液中で一方のエナンチオマーの富化が起こり、母液と反対のキラリティを持つ対掌体過剰率の低い非ラセミ体の結晶が析出する。この対掌体過剰率の低い非ラセミ体の結晶に溶媒を加え溶解したのち再結晶すると、母液中で結晶と同じキラリティを持つエナンチオマーが富化し、母液と反対のキラリティを持つ対掌体過剰率の低い結晶が得られるという特徴を持つ

(図 16)。

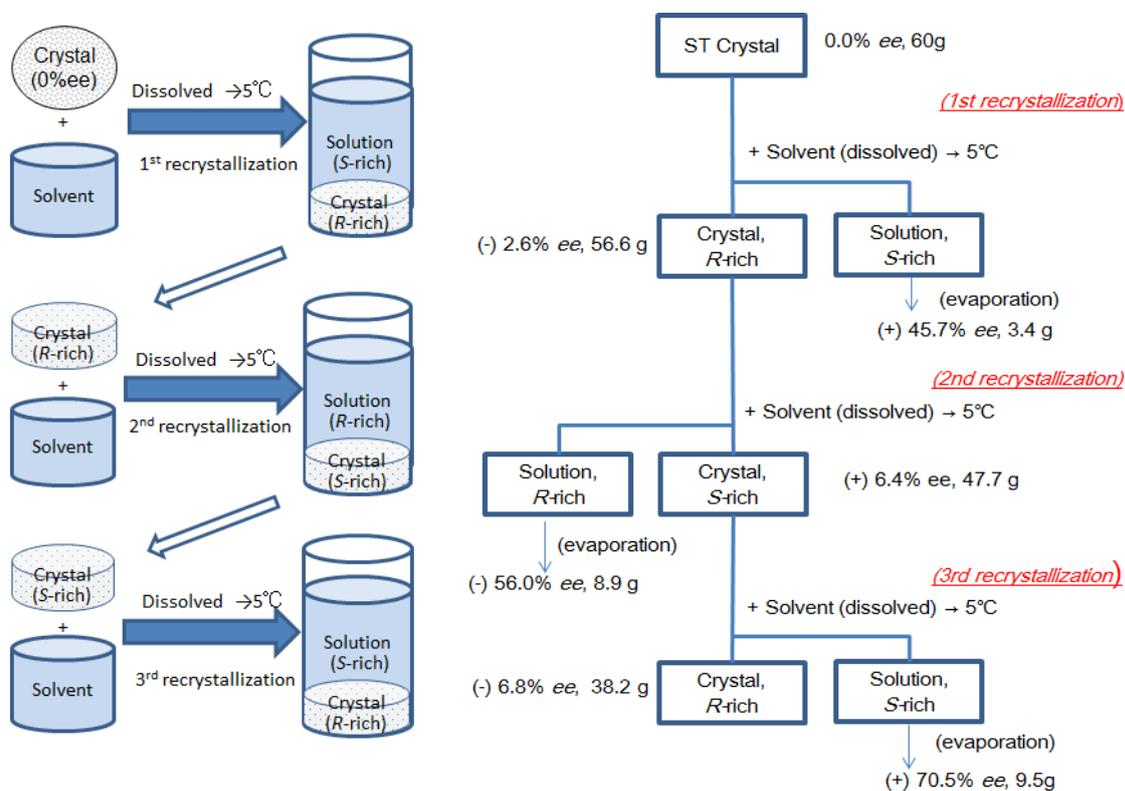


図 16 ST の再結晶工程と優先富化現象.

優先富化現象のメカニズム²⁶⁾を図 17 に示した。図 17 では R 体がわずかに過剰の溶液から再結晶した場合を示した。ST 及び類似化合物は、溶液中では R 体、S 体それぞれで分子会合が進行し (図 17 (a))、ホモキラルな一次元鎖が優先的に生成する。この一次元鎖が凝集し (図 17 (b))、クラスターを経て非安定結晶が生成すると推測される。非安定結晶中では R 体と S 体はホモキラルな鎖状の構造をとる (図 17 (c))。この時、非安定結晶相は溶液の状態を反映し、R 体がわずかに過剰となる。次に水素結合の再編成により結晶転移が起こる。その結果、より安定な R 体と S 体が水素結合を形成し対になった構造をとる (図 17 (d))。この際に R 体が過剰に含まれた部分は水素結合を形成できず溶液中に再溶解し、母液中に R 体のエナンチオマーが増幅される。一方で S 体がわずかに過剰となった部分は溶液中に再溶解することなく結晶に取り込まれ、析出する結晶は母液と反対の S 体がわずかに過剰となる (図 17 (e))。

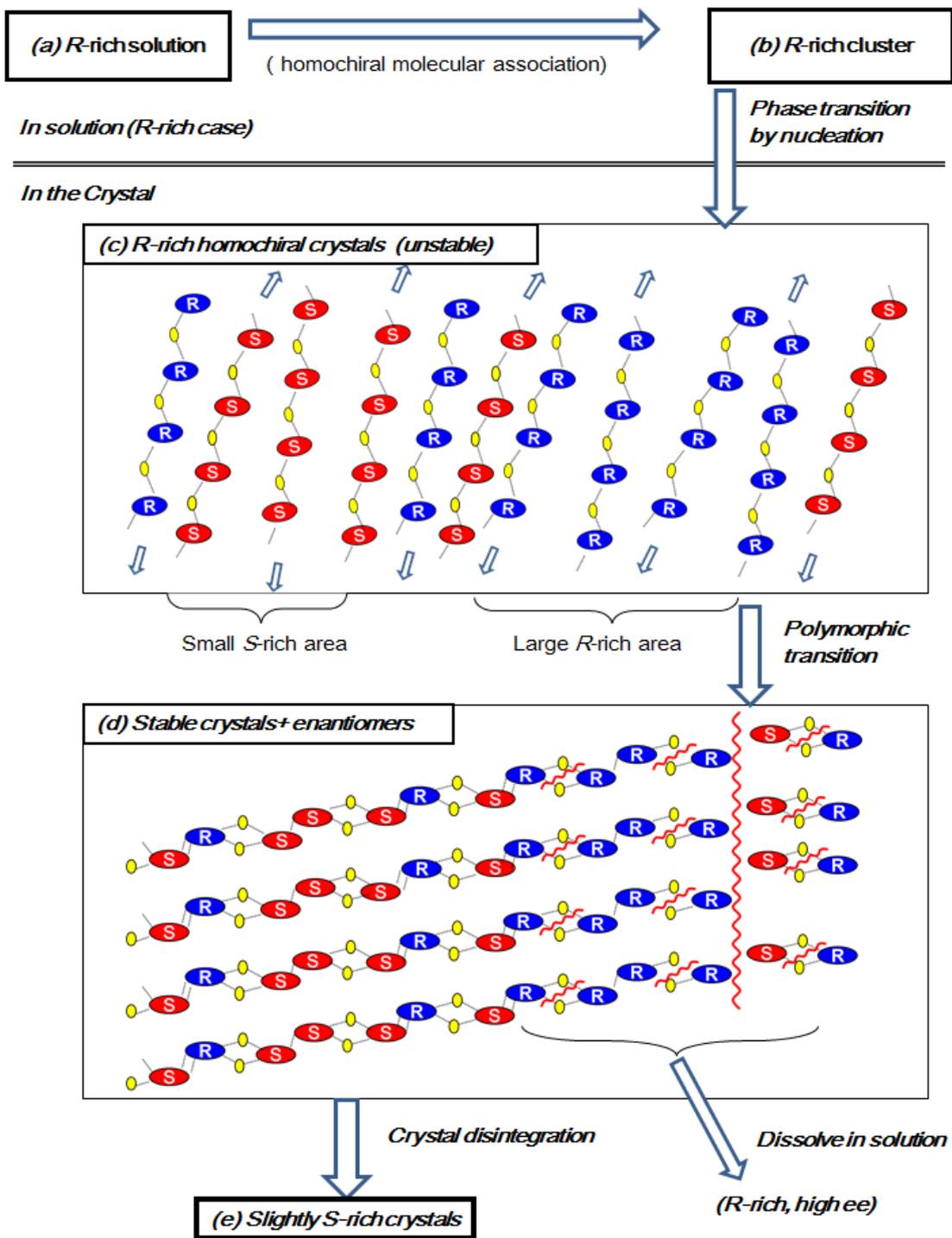


図 17 ST 及び類似化合物の再結晶化工程と優先富化現象.

STの α 形結晶と δ 形結晶は優先富化現象を示す結晶であることが知られている^{24,30}。ST結晶多形の化学的安定性の結果から、優先富化現象の過程で生成したホモキラルな非安定結晶相が α 形結晶中に含まれているため、 α 形結晶の化学的安定性が劣るものと推測された。 α 形結晶は結晶構造解析により両エナンチオマーが対になった構造であることが明らかとなっている^{28,29}。しかし、完全な一対のエナンチオマーから形成される結晶（ラセミ化合物）では、光学分割は起こりえない。そこで、 α 形結晶には結晶構造解析では検出できない程度の少量の不規則な結晶構造が存在すること、さらに α 形結晶の対掌体過剰率はほぼゼロのため、少量の不規則な結晶構造と相殺する量の反対のエナンチオマーからなる結晶も存在すると予測された。このように、 α 形結晶中には、ホモキラルな非安定結晶相とS体とR体が対になったヘテロキラルな安定結晶、さらに少量の不規則な結晶構造が併存したため、60°Cにおける α 形結晶の分解が促進したと推定された。

第2節 結晶の均質性評価

ST α 形では、結晶化の過程で結晶中のホモキラルな非安定結晶相が再溶解することにより、母液の対掌体過剰率が高くなることが報告されている²⁴⁾。析出している結晶と母液のキラリティは反対で差は徐々に大きくなるため、転移速度（結晶成長速度）は徐々に遅くなる。この場合、析出した結晶中には転移前の結晶と転位後の結晶が混在することになる。この転移前の結晶が非安定結晶相である。そこで、非安定結晶相を含む α 形結晶に溶解性の低い溶媒を少量添加した場合、ホモキラルな非安定結晶相が優先的に溶解し、懸濁上清の対掌体過剰率はプラス又はマイナス大過剰に傾くものと予測した。一方、 η 形結晶や規則性の高い（未転移のホモキラルな非安定結晶相を含まない） α 形結晶では、少量の溶解性の低い溶媒を添加してもホモキラルな非安定結晶相が存在しないため、懸濁上清の対掌体過剰率は0% eeになるものと予測した。

以上の仮定のもと、ST結晶の均質性を評価する方法の開発を試みた。この方法では、まずST結晶試料に少量の2-プロパノールを添加し、攪拌後、その懸濁液の上清（以下、懸濁上清とする）1.0 μ Lを採取し、対掌体過剰率（ee%）を測定する。次にサンプリング実施後の検体に溶解性の高いメタノールを添加すると、ST結晶はすべて溶解し、均一な溶液となる。この均一溶液についても、同様にHPLCにより対掌体過剰率（ee%）を測定する（図18）。懸濁上清は溶解性の低い溶媒に優先的に溶解する結晶試料のS体とR体の比率を、均一溶液はST結晶全体のS体とR体の比率を評価できるため、両者を比較することにより、ST結晶試料の均質性が評価可能となる。

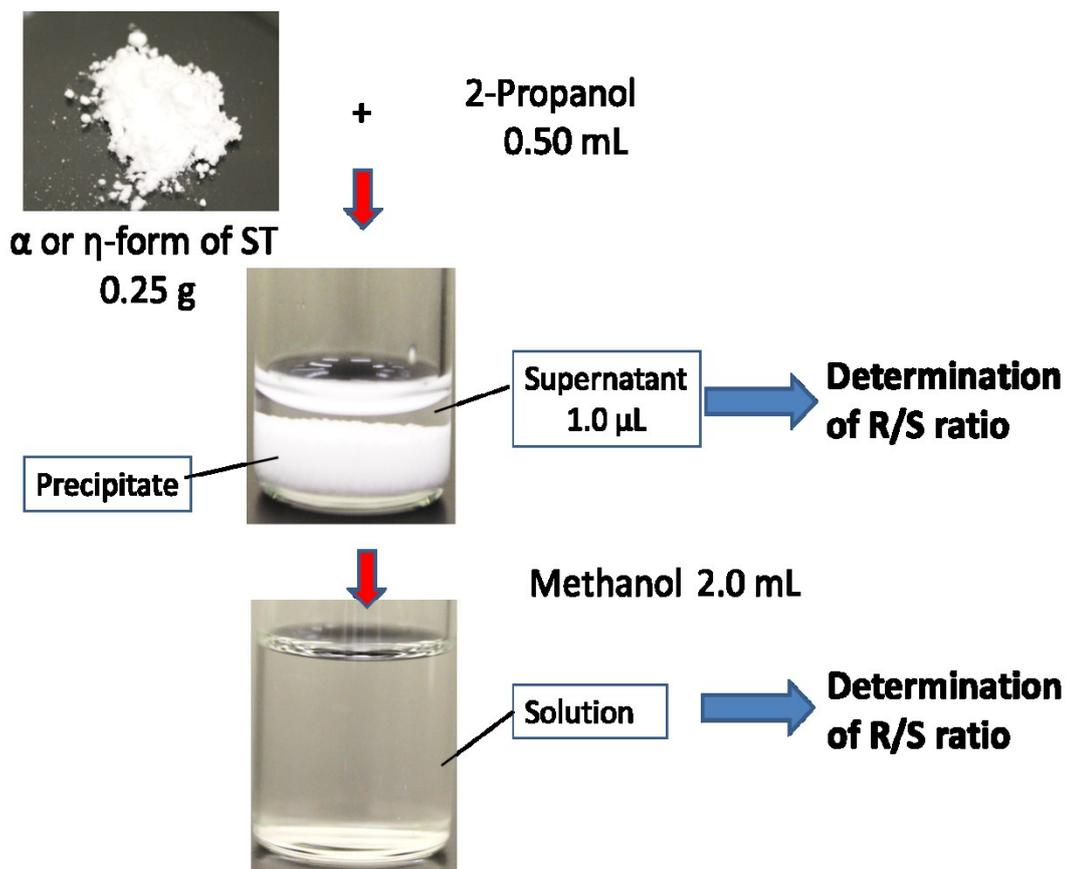


図 18 ST 結晶の均質性の評価方法.

通常の再結晶で得られる均質性の低いα形結晶数ロットに対し、少量の2-プロパノールを添加し、懸濁上清を測定したところ、対掌体過剰率は+44~64% ee (S 過剰) となった。上清採取後の懸濁液にメタノールを加えて溶解し、溶液の対掌体過剰率を測定した結果、いずれも 0% ee に近い結果が得られ、溶解性の低い溶媒を少量加えた場合には、非安定結晶相が優先的に溶解することが確認された。一方、η形結晶では、懸濁上清、均一溶液ともにその対掌体過剰率はほぼ 0% ee であり、η形結晶が均質な結晶であることが確認された。これらの結果を踏まえ、η形結晶に通常の再結晶で得られる均質性の低いα形を添加し (4.0~100%)、懸濁上清及びST 溶液を測定した結果、懸濁上清の対掌体過剰率はα形結晶の添加量の比率が増えるに従い大きくなった。

一方, ST 溶液の対掌体過剰率は α 形結晶の存在比率に関係なく 0% ee であった (図 19). 懸濁上清の対掌体過剰率が直線的に増加していることより, 懸濁上清中では非安定結晶相が優先的に溶けていると考えられた. 以上の結果から, 新たに開発した測定法により, ST 中の非安定結晶相を評価できることが確認された.

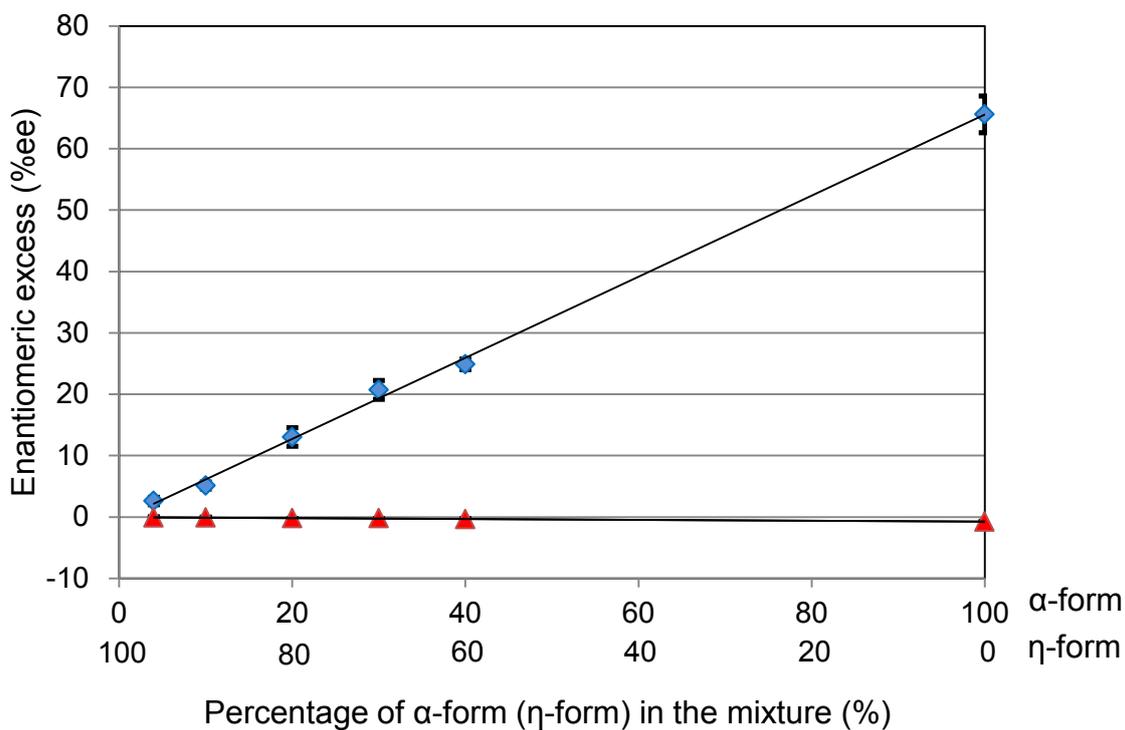


図 19 α 形と η 形結晶混合物の対掌体過剰率 (% ee).
 n=3, mean \pm S.D., (◆) Supernatant, (▲) Solution

第3節 均質性の異なる α 形結晶の調製

非安定結晶相を含まない規則性の高い α 形結晶, 不規則構造を一部に有する α 形及び非安定結晶相を含む α 形結晶(通常の再結晶で得られる α 形)の調製を目的として, 表5に示した調製方法を用いて3種類の α 形結晶を調製した. 以降, 各結晶を α -A形, α -B形及び α -C形と記載する. 調製した3種の α 形結晶の物理化学的性質を評価し, 次節にその結果を示した.

表5 3種の α 形結晶の調製方法.

	Method	Starting material	Solvent	Starting concentration	Remarks
α - A type	Solution-mediated (Transformation)	η -form	Mixture of acetone and water	Excess	Seed crystals: ST α -form
α - B type	Recrystallization (Temperature change)	α -form	2-Propanol	5%	Temperature: 50°C → Room temperature
α - C type (Conventional)	Recrystallization (Anti-solvent)	α -form	Ethanol	17%	Anti-solvent : isopropyl ether

第4節 α -A, α -B 及び α -C 形の物性評価

3種の α 形結晶のSEM (Scanning Electron Microscope) 画像を図20に示した。 α -A形は柱状の結晶, α -B形は柱状結晶及び凝集晶, α -C形は粒子の大きな凝集晶であった。PXRD及びIRスペクトルでは3種の結晶の差は認められなかったが(図21及び図22), DSCでは結晶間の融点及び融解熱量に違いが認められ, α -A形は融点, 融解熱量ともに最も大きい値を示した(図23)。

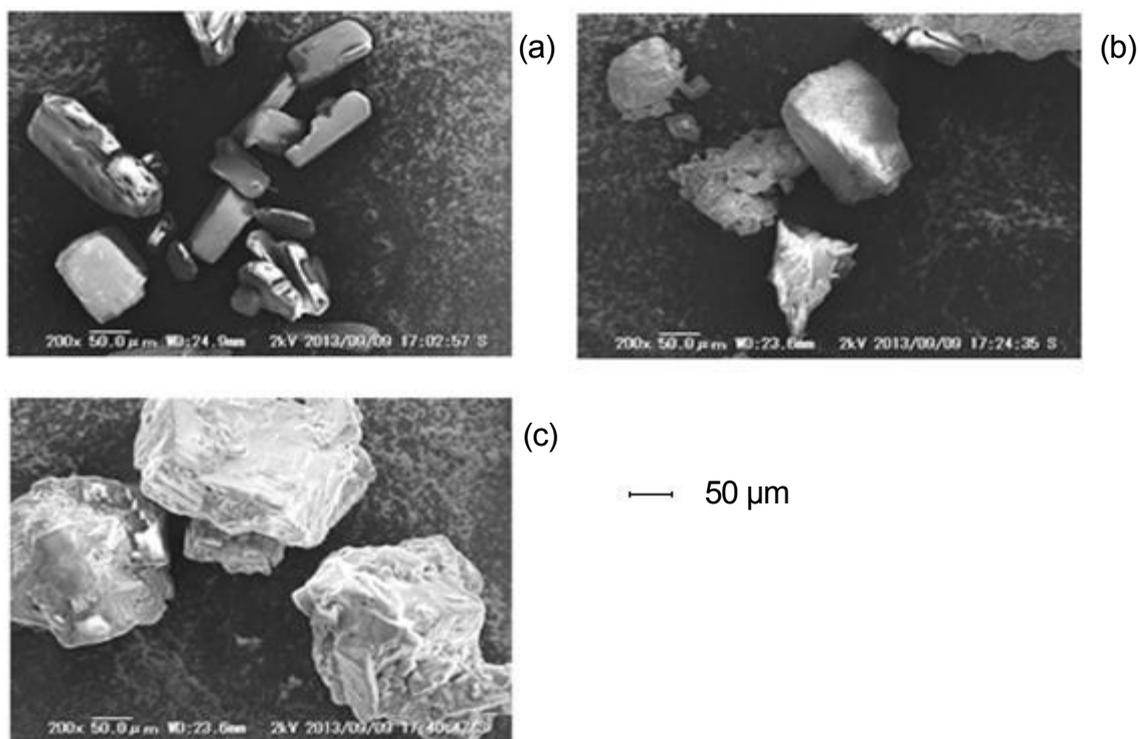


図20 種々の α 形結晶のSEM画像.
(a) α -A type, (b) α -B type, and (c) α -C type

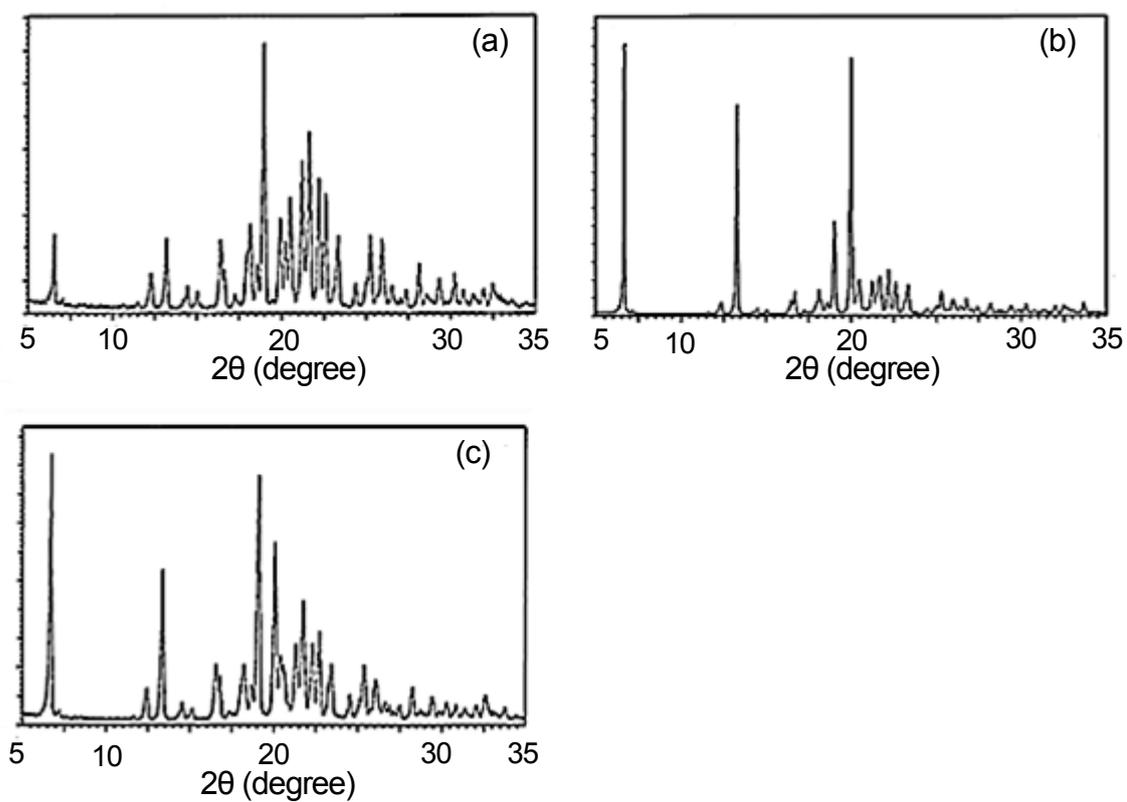


図 21 種々の α 形結晶のPXRDパターン.
 (a) α -A type, (b) α -B type, and (c) α -C type

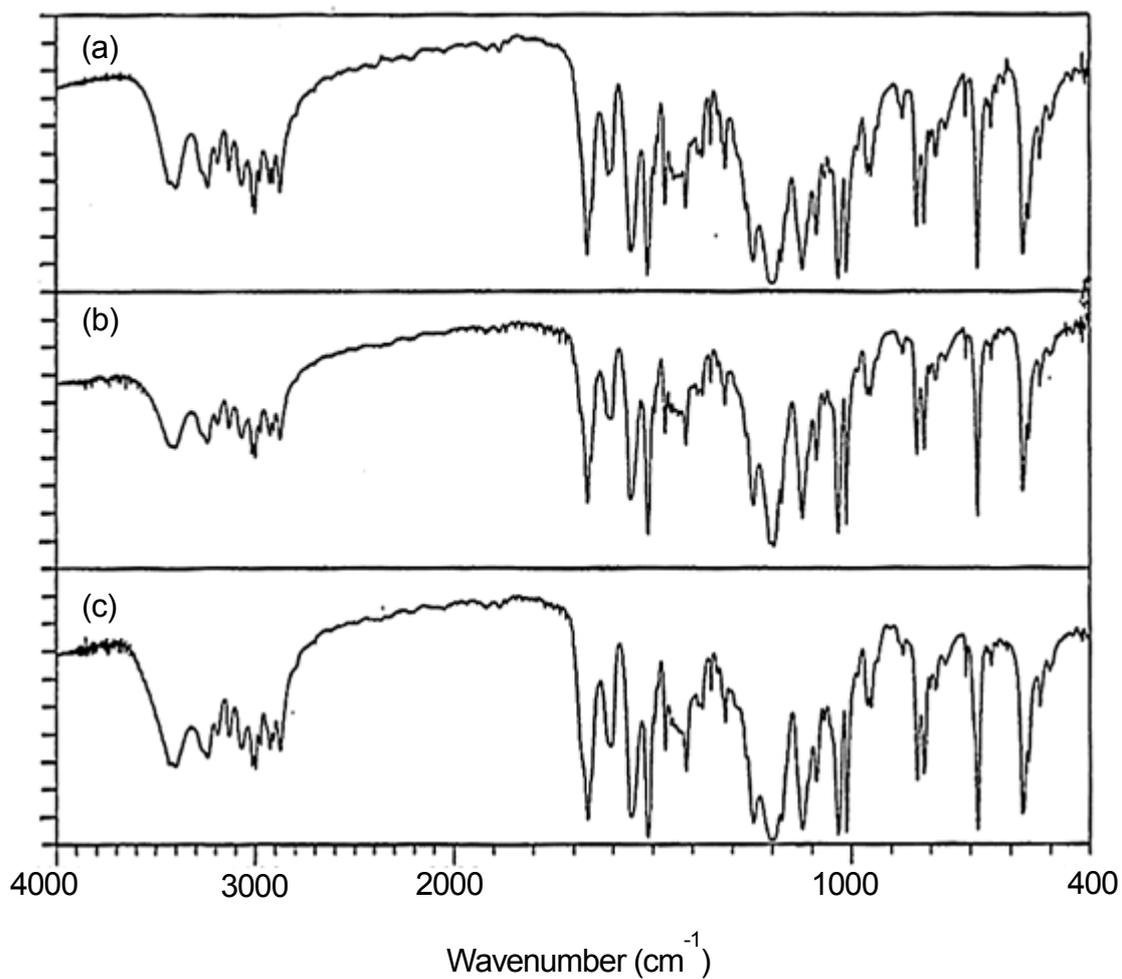


図 22 種々の α 形結晶の IR スペクトル.
(a) α -A type, (b) α -B type, and (c) α -C type

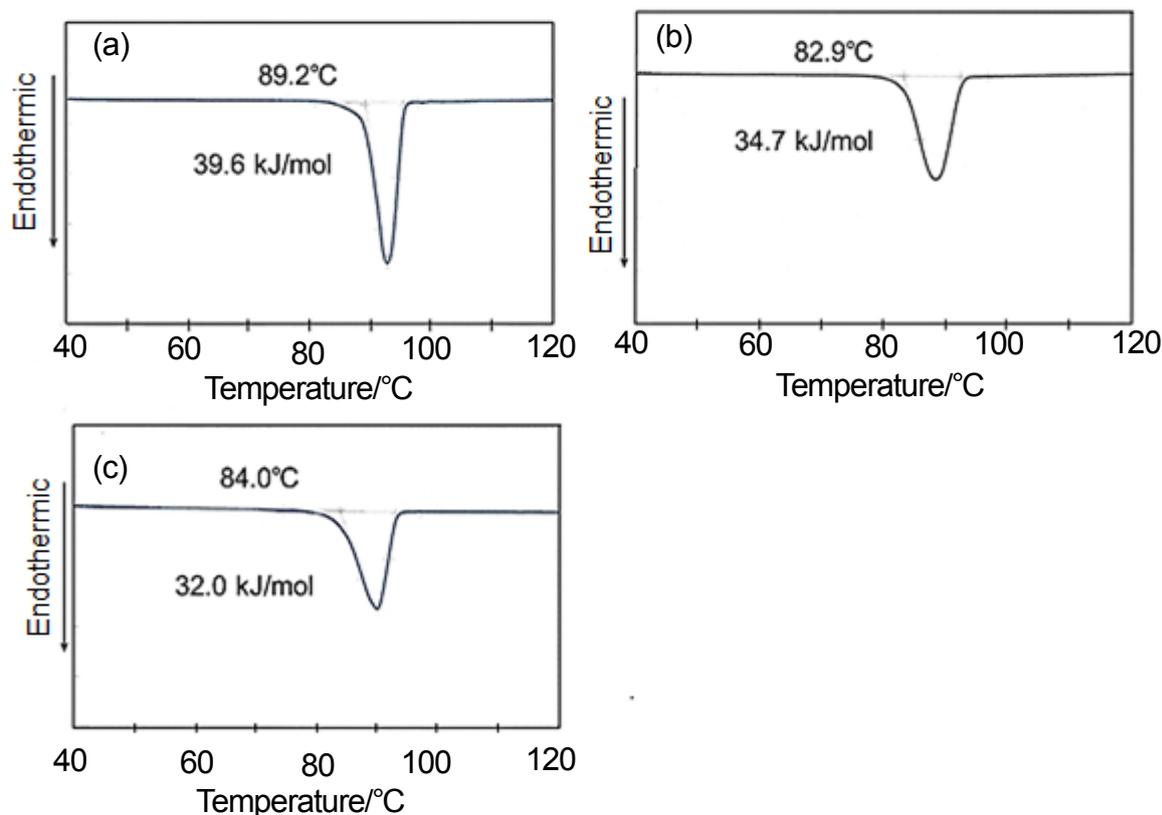


図 23 種々の α 形結晶の DSC 曲線.

(a) α -A type, (b) α -B type, and (c) α -C type

Melting point (onset temperature) and the heat of fusion are shown in each figure.

3 種の α 形結晶の水分増加量を DVS (Dynamic Vapor Sorption) を用いて測定し、結果を図 24 に示した。 α -C 形では 40~70%RH で、徐々に水分吸着量の増加が認められるのに対し、 α -A 形では 68%RH で急激に水分の吸着が確認された。 α -B 形は 65~70%RH で水分吸着量の増加が認められた。 75%RH 以上では、3 種の α 形結晶はほぼ同じ水分吸着量となった。 この 40~70%RH でのわずかな水分吸着量の増加率の違いは、結晶の均質性の相違によるものと推測した。

次に、各結晶を気密容器に保存し、60°C の安定性を評価した (図 25)。 その結果、 α -C 形 > α -B 形 > α -A 形の順に分解物の生成量が多くなった。

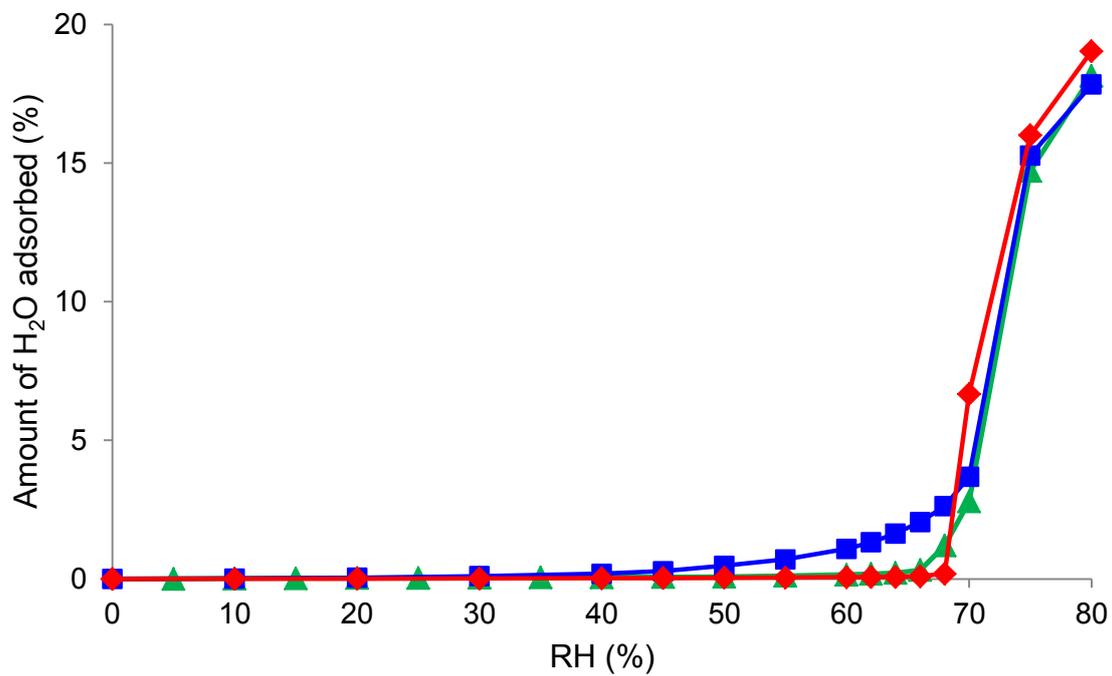


図 24 種々の α 形結晶の吸湿平衡曲線.
 (◆) α -A type, (▲) α -B type, and (■) α -C type

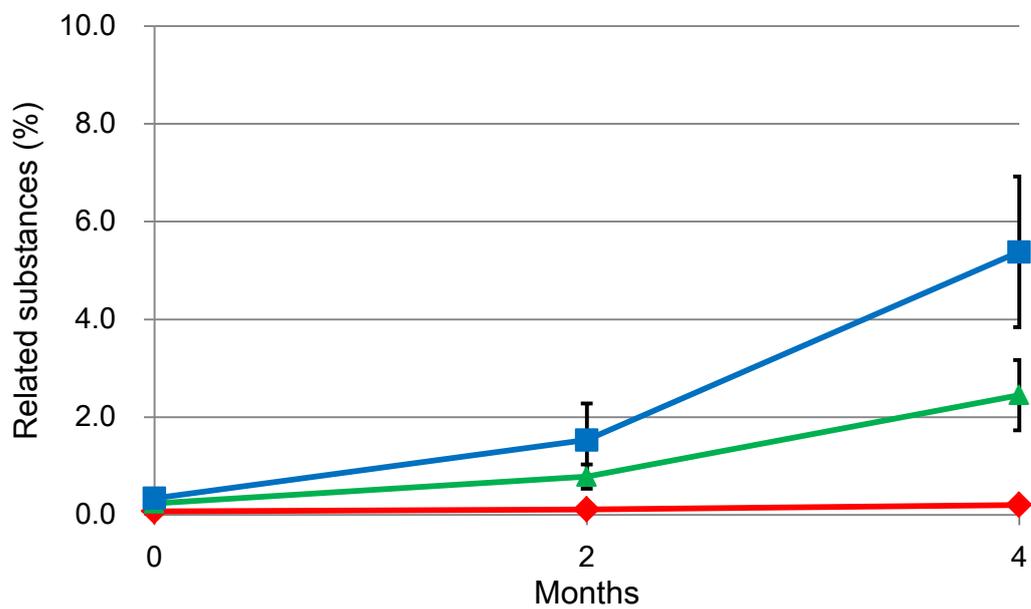


図 25 種々の結晶多形の化学的安定性 (60°C, 気密容器).
 n=3, mean ± S.D. (◆) α-A type, (▲) α-B type, and (■) α-C type

第 5 節 α 形結晶構造の推定

第 3 節で調製した 3 種類の α 形結晶について、得られた実験結果を表 6 及び表 7 にまとめた。 α -C 形結晶の化学的安定性評価時に懸濁上清及び溶液の対掌体過剰率を評価した際のクロマトグラムを図 26 及び図 27 に示した。

融解熱量、化学的安定性評価時の分解物の増加量（以下、分解物の増加量）及び懸濁上清の対掌体過剰率（初期値）において、3 種類の α 形の結晶間で有意差が認められた(p 値: 0.05)。また、「懸濁上清の対掌体過剰率（初期値）と分解物の増加量」、「融解熱量と分解物の増加量」及び「融解熱量と懸濁上清の対掌体過剰率（初期値）」に相関が確認された（各相関係数 (r): 0.9372, -0.8880 及び -0.9088）。物理化学的性質の評価結果を踏まえ、各 α 形結晶の結晶構造について考察した。

表 6 種々の α 形結晶の物性の比較 (1).
(PXRD, IR, DSC, and Increment of the degradation products)

Crystal	PXRD	IR	DSC (Mean \pm S.D.)		Increment of the degradation products (%) (Mean \pm S.D.)
			Melting point ($^{\circ}$ C)	Heat of fusion (kJ/mol)	
α -A	α -form	α -form	89.2 \pm 0.10	+39.8 \pm 0.21	0.13 \pm 0.04
α -B	α -form	α -form	83.1 \pm 0.15	+34.9 \pm 0.26	2.22 \pm 0.72
α -C	α -form	α -form	84.0 \pm 0.35	+34.9 \pm 0.26	5.04 \pm 1.56

表 7 種々の α 形結晶の物性の比較 (2).
(Enantiomeric excess)

Crystal		Enantiomeric excess (%ee)	
		(Mean \pm S.D.)	
		Initial	4 months at 60°C
α -A	Supernatant	+0.4 \pm 0.06 (S excess)	+0.3 \pm 0.17 (S excess)
	Solution	+0.1 \pm 0.15 (S excess)	-0.1 \pm 0.06 (R excess)
α -B	Supernatant	+14.6 \pm 4.52 (S excess)	+5.4 \pm 1.77 (S excess)
	Solution	+2.8 \pm 0.21 (S excess)	+2.7 \pm 0.30 (S excess)
α -C	Supernatant	+54.6 \pm 9.99 (S excess)	+5.3* (S excess)
	Solution	-0.5 \pm 0.26 (R excess)	-0.7 \pm 0.21 (R excess)

*: The replicated data was not tested since the HPLC method to evaluate supernatant had not been developed at the initial studies.

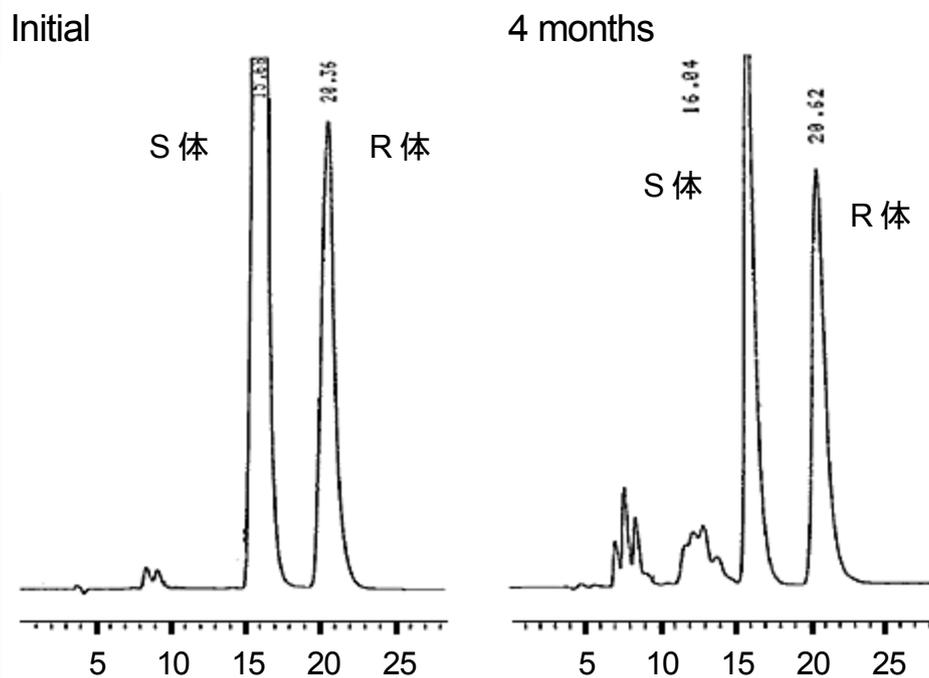


図 26 α -C 形の懸濁上清のクロマトグラム (開始時及び 60°C 4 箇月保存後) .

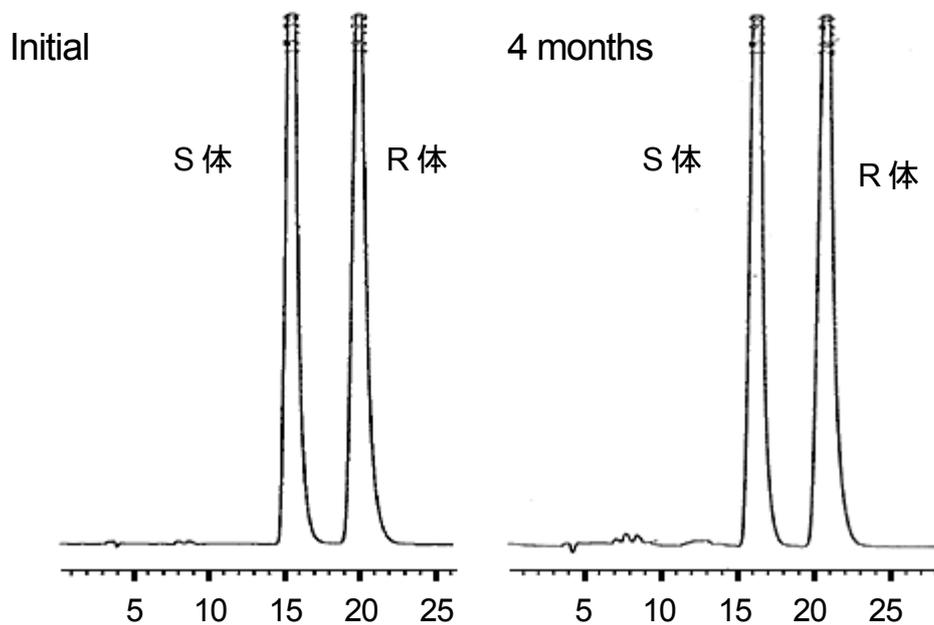


図 27 α -C 形の溶液のクロマトグラム (開始時及び 60°C 4 箇月保存後) .

α -A 形の結晶構造に関する考察

α -A 形の懸濁上清の対掌体過剰率及び結晶全体（均一溶液）の対掌体過剰率はともに 0% ee であり、 α -A 形が均質な結晶であることが確認された。60°C 保存下で保存した試料の分解物を測定した結果、 α -A 形が最も安定な結晶であり保存 4 箇月でもほとんど分解しなかった。 α -A 形は均質な結晶である η 形結晶を懸濁溶液中で攪拌し、徐々に α 形に転移させることにより調製した。溶媒媒介転位により溶解度の高い η 形結晶が溶解し、溶解度の低い α 形結晶が析出する。本手法では、 η 形結晶にとっては飽和、 α 形結晶にとっては過飽和という比較的低濃度条件で結晶を転移させることができる。また R 体と S 体の割合が 1:1 である η 形結晶が溶解し α 形結晶が生成するため、最も規則性の高い α 形結晶となったものと考察した (図 28 (a))。 η 形結晶 (図 29) 及び α -A 形結晶は固体状態で均質であるため、結晶の一部を溶かした場合でも対掌体過剰率は 0% ee であり、全ての結晶を溶かした場合でも対掌体過剰率は 0% ee となる (図 30, 上段)。

α -B 形の結晶構造に関する考察

本結晶の懸濁上清の対掌体過剰率は+14.6% ee であった。また、 α -B 形の均一溶液の対掌体過剰率は+2.8% ee であり、S 体がわずかに過剰であった。60°C における化学的安定性では、分解物の生成量は α -A 形に次いで少ない結果を示した。60°C、4 箇月保存後の試料では、懸濁上清の対掌体過剰率は+5.4% ee まで低下したが、溶液の対掌体過剰率は 4 箇月保存後で+2.7% ee であり、結晶全体の対掌体過剰率はわずかに減少する傾向を認めた。本検討で得られた結果から、 α -B 形は結晶中の一部の R 体と S 体が入れ替わった構造（ラセミ固溶体）であると判断した。 α -B 形は低濃度（5.0%）の ST 溶液で比較的時間をかけて結晶化を行っているため、非安定結晶相の多くは溶液中に再溶解したと考察した（図 28 (b)）。

α 形結晶は R 体と S 体の-OH と C=O の間に 2 個の水素結合を有するが、この構造は 1 個の水素結合でも結晶構造を維持することができるため、1 分子の R 体もしくは S 体を取り違えられて結合した場合にも、結晶構造は維持される。優先富化現象のメカニズムとして、ホモキラルな構造からヘテロキラルな構造へと結晶が転移する際に 4 個以上同種のエナンチオマーが繋がった場合は、 α 形結晶の構造を維持することが不可能となり溶液中に再溶解していく³⁸⁾。 α -B 形は α -C 形と比較すると低濃度で長時間かけて再結晶しているため、非安定結晶相の多くが再溶解し、生成した結晶は一方のエナンチオマーが過剰となった構造を取ると推測した（図 30, 中段）。懸濁上清の対掌体過剰率が、60°C で 4 箇月保存後に低下した理由として、加温下での保存により、 α -B 形結晶中の一方向のエナンチオマーが過剰となった不規則な部分が優先的に分解したためと推測した。均一溶液の対掌体過剰率は 60°C での保存後にプラス体の分解に伴い、わずかに減少した。

α -C 形の結晶構造に関する考察

本結晶を 60°C で 4 箇月保存すると、懸濁上清の対掌体過剰率は約+5.3% ee まで低下した。 α -C 形は結晶化時の過飽和度が高く、また、ST のエタノール溶液中にイソプロピルエーテルを添加して急速に結晶化を行っていることから、結晶化が急速に進行する。よって、非安定結晶相は結晶化の過程で再溶解せず、 α -C 形結晶中に残存する。本調製法で対掌体過剰率の初期値が 54.6%であったことは非安定結晶相の残存を反映していると推察される。

α -C 形は非安定結晶相の再溶解が遅延することにより、 α -B 形と比較して結晶中により多くの非安定結晶相が残存している。従って、 α -C 形は S 体と R 体の比率がわずかにずれた不規則な構造を一部に有する結晶（わずかに R 体過剰）と、反対のキラリティを有する再溶解せずに残存した非安定結晶相（S 体）の混合結晶であり、60°C の化学的安定性が最も劣る結果になったと考察した（図 28 (c)）。 α -C 形を 2-プロパノール中で懸濁すると、非安定結晶相（S 体）が優先的に溶解し、結果として懸濁上清の対掌体過剰率は+54.6% ee（77%の S 体と 23%の R 体）となる。メタノール中で全結晶を溶解させた場合、対掌体過剰率は R 体が微過剰 (-0.5% ee) となる（図 30, 下段）。これは、結晶生成の過程で優先富化現象により一方のエナンチオマー（この場合は S 体）が溶液中に過剰となっていくため、生成する結晶中では反対のエナンチオマー（この場合は R 体）が微かに過剰量存在するためであると考察した。

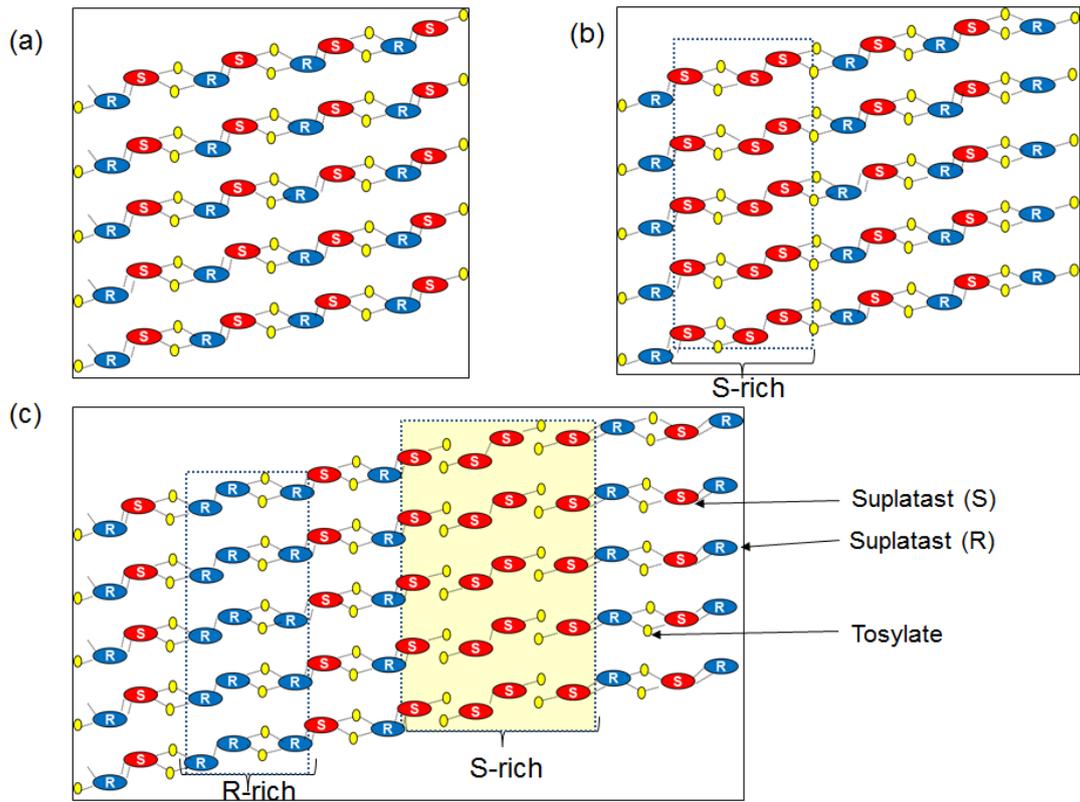


図 28 3種の α 形結晶の推定構造.
 (a) α -A type, (b) α -B type, and (c) α -C type

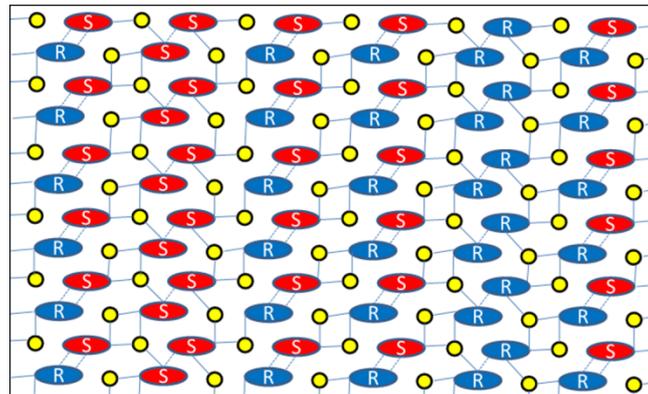
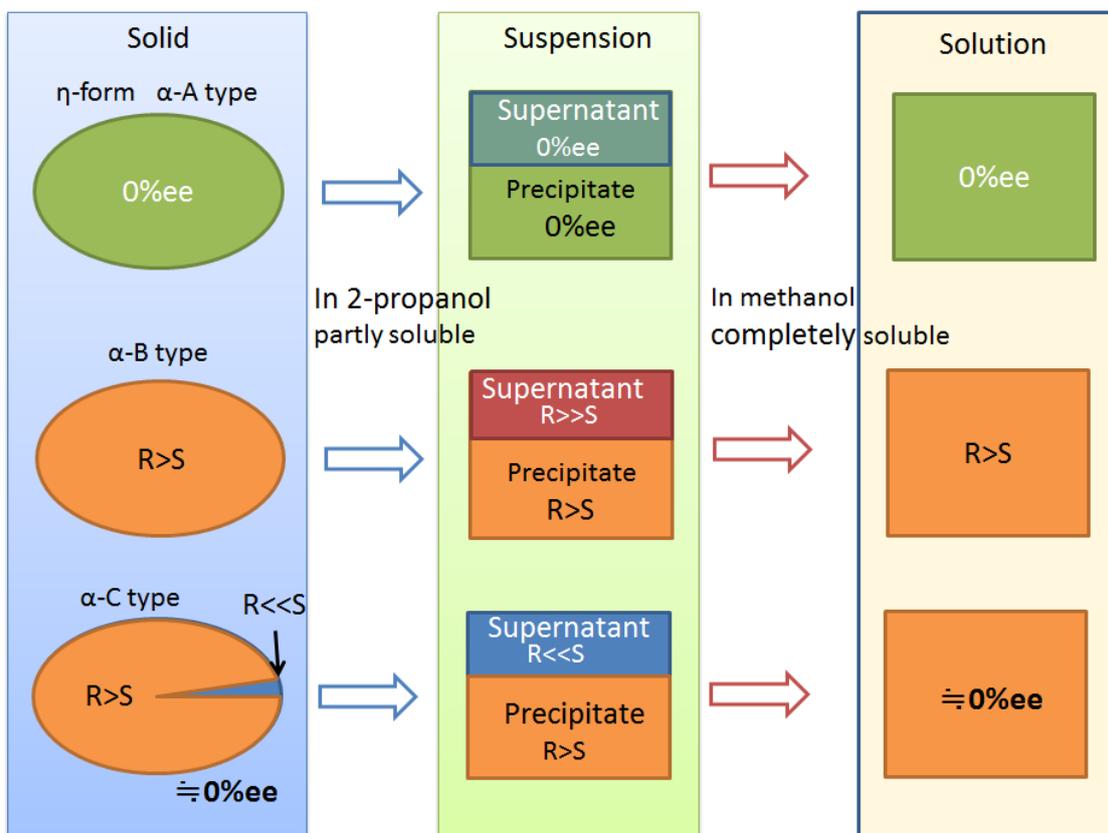


図 29 η 形結晶の推定構造.



*: Ratio of R and S may revise in some cases.

図 30 ST 結晶の固体, 懸濁液, 溶液中の均質性の略図.

第6節 まとめ

STの α 形結晶は、第一章で測定した溶解度等の結果から熱力学的には最安定形と推測されるにも拘わらず、他の結晶よりも化学的安定性に劣る結果を示した。 α 形結晶中に非安定結晶相が混在し、結晶の一部が不均質となっていることが化学的安定性に劣る原因と考察した。優先富化現象のメカニズムから混在している非安定結晶相は溶解性が極めて高いと判断し、結晶の懸濁上清の対掌体過剰率を測定することにより、結晶の均質性を評価する方法を開発した。開発した評価方法を用いて、懸濁上清及び溶液の対掌体過剰率が異なる3種類の結晶(α -A形、 α -B形、及び α -C形)を調製し、結晶の均質性が60°Cでの安定性に及ぼす影響を検討した。得られた結晶の物性を評価した結果、PXRD及びIRでは差が認められなかったのに対し、DSCやDVSでは差が認められた。化学的安定性にも差が認められ、懸濁上清の対掌体過剰率が低い α 形結晶ほど、化学的安定性に優れる結果となった。 α 形結晶中に混在する非安定結晶相は、PXRD及びIRでは検出不能であったが、開発した方法で各結晶の懸濁上清を測定することにより、評価が可能となった。

懸濁上清及び溶液の対掌体過剰率並びに化学的安定性の結果から、 α -A形は規則性の高い均質な結晶、 α -B形は不規則な構造を一部に有する結晶、 α -C形は不規則な構造を一部に有する結晶と非安定結晶相の混合結晶であると判断した。また、 α -A形が化学的安定性に優れる結晶であること、非安定結晶相を含まない規則性の高い α 形結晶の調製方法として、 η 形結晶からの溶媒媒介転位を利用する方法が適切であること、均質性の異なる結晶を調製可能であることを明らかにした。 α 形結晶は特異な光学分割現象である優先富化現象を示すことから、非安定結晶相はホモキラルな結晶相から

ヘテロキラルな結晶に転移する際に再溶解する部分が固体化したものであると判断した。

結語

本研究では、抗アレルギー剤である ST について再結晶法及び ST の類似化合物を種晶として接種することにより、ST の 4 種 (γ , ε , ζ , 及び η 形) の新規結晶多形を調製し、これらの結晶の物理化学的特性について評価した。PXRD データより新規の結晶は既存の 3 種の結晶 (α , β , 及び δ 形) と異なり、また、新規結晶同士が互いに異なった結晶形であることが確認された。IR スペクトル及び固体 ^{13}C -NMR スペクトルから、ST の 4 種の新規結晶多形の結晶内の水素結合の有無を評価した。さらに ε 及び η 形について、PXRD データを用いてリートベルト解析から構造決定を行った。IR、固体 NMR スペクトルから推定した結果とリートベルト解析により得られた分子配列の結果を比較し、矛盾のないことを確認した。

α 形結晶は、溶解度等の結果から最安定結晶と考えられたが、検討の過程で非安定結晶相を含む α 形が存在し、化学的安定性に影響を及ぼすことが判明した。そこで、懸濁上清の対掌体過剰率を測定することにより、結晶中の非安定結晶相の混在を評価する方法を開発した。次に、懸濁上清及び溶液の対掌体過剰率が異なる 3 種類の結晶を調製し、結晶の均質性が 60°C での化学的安定性に及ぼす影響を検討した。懸濁上清の対掌体過剰率が低い α 形結晶ほど、化学的安定性に優れる結果となった。以上の検討結果から、均質な α 形結晶は ST 結晶の中で最安定結晶であると結論付けられた。

優先富化現象に関してはこれまで ST と類似化合物にのみ確認されていたが、最近ではケトプロフェン、DL-アルギニンの共結晶でも確認されていることから^{39),40)}、今回の一連の研究が他の化合物に応用されることが期待される。

謝辞

終わりに臨み、本研究に際して終始ご懇切なるご指導、ご鞭撻を賜りました千葉大学大学院 薬学研究院 教授 森部久仁一先生に深甚なる謝意を表します。本研究を遂行するに当たり、有益なるご指導、ご助言を賜りました千葉大学名誉教授 山本恵司先生に深く感謝致します。

本研究の共同研究者であり、論文の作成にあたり、終始多大なるご協力とご助言を賜りましたエースジャパン株式会社 生塩孝則博士に心より厚く御礼申し上げます。

X線結晶構造解析にご協力頂きました京都大学大学院, 田村類教授, 津江広人教授, 高橋弘樹助教, 固体核磁気共鳴スペクトル測定にご協力下さいました理化学研究所 仲村高志博士に心より感謝の意を表します。

本研究の機会を与えて頂き、格別のご配慮を賜りました大鵬薬品工業株式会社 CMC 本部 馬場一彦本部長, CMC 本部 原薬・製剤サプライチェーン 渡邊正太郎担当部長, 分析科学研究所 木下真宏所長, 合成技術研究所 松永康志副所長に心より感謝致しますと共に、粉末 X線回折を測定して頂きました合成技術研究所 三浦秀範研究員に深く感謝致します。

最後にこれまで私を暖かく応援してくれた母と姉に心から感謝致します。

実験の部

1. 試料

トシル酸スプラタスト[(±)-2-[4-(3-エトキシ-2-ヒドロキシプロポキシ)フェニルカルバモイル]エチル]ジメチルスルホニウム *p*-トルエンスルホネート(1a)は、大鵬薬品工業株式会社から提供された。STの類似化合物、(±)-2-[4-(3-プロポキシ-2-ヒドロキシプロポキシ)フェニルカルバモイル]エチル]ジメチルスルホニウム *p*-トルエンスルホネート(1b)、(±)-2-[4-(3-エトキシ-2-ヒドロキシプロポキシ)フェニルカルバモイル]エチル]ジメチルスルホニウム *p*-クロロベンゼンスルホネート(1c)及び(±)-2-[4-(3-エトキシ-2-ヒドロキシプロポキシ)フェニルカルバモイル]エチル]トリメチルアンモニウム *p*-トルエンスルホネート(2)は京都大学大学院、人間・環境学研究科及び大鵬薬品工業株式会社によって提供されたものを用いた。試薬及び溶媒は市販特級を用いた。

2. 試料の調製

2.1. α 形結晶の調製

ST 5.0 g にエタノール 30 mL を加えて溶かした。これにイソプロピルエーテル 30 mL を加えて室温に1日間保管後、生成した結晶をろ取し、乾燥することにより α 形結晶を得た。

2.2. β 形結晶の調製

ST 5.0 g にアセトン 20 mL を加えて 70°C に加温して溶解した。これに種晶として β 形結晶を接種し、室温に1日間保管後、生成した結晶をろ取し、乾燥することにより β 形結晶を得た。種晶として用いた β 形結晶は参考文献²⁵⁾に記載した方法で調製した。

2.3. γ 形結晶の調製

ST 5.0 g をクロロホルム 20 mL に溶解し、溶媒を減圧下で蒸発させることで、 γ 形結晶を得た。

2.4. δ 形結晶の調製

ST 1.0 g に 2-プロパノール 4.0 mL を加えて加温して溶かし、(±)-[2-[4-(3-エトキシ-2-ヒドロキシプロポキシ)フェニルカルバモイル]エチル]ジメチルスルホニウム *p*-クロロベンゼンスルホネート(1c) 2-3 mg を種晶として添加し、生成した結晶をろ取し、乾燥することにより δ 形結晶を得た。

2.5. ϵ 形結晶の調製

ST 1.0 g を 2-プロパノール 4.0 mL に加熱しながら溶解した。溶液を室温まで冷却した後、(±)-[2-[4-(3-エトキシ-2-ヒドロキシプロポキシ)フェニルカルバモイル]エチル]トリメチルアンモニウム *p*-トルエンズルホネート(2) 約 5 mg を擬似種晶として加えた。得られた湿結晶を種晶として、別途調製した ST の 2-プロパノール溶液 (ST : 5.0 g, 2-プロパノール : 20 mL) 中に添加した。生成した結晶をろ取し、乾燥することにより ϵ 形結晶を得た。

2.6. ζ 結晶の調製

ST 1.0 g を 2-プロパノール 4.0 mL に加熱しながら溶解した。溶液を室温まで冷却した後、(±)-[2-[4-(3-プロポキシ-2-ヒドロキシプロポキシ)フェニルカルバモイル]エチル]ジメチルスルホニウム *p*-トルエンズルホネート(1b) 約 2 mg を擬似種晶として加えた。得られた湿結晶を種晶として、別途調製した ST の 2-プロパノール溶液 (ST : 5.0 g, 2-プロパノール : 20 mL) に添加した。生成した結晶をろ取し、乾燥することにより ζ

形結晶を得た.

2.7. η 結晶の調製

ST 5.0 g をアセトン 30 mL 及び水 0.75 mL 混液中に加え、加熱して溶解した. 5°C に冷却後, ST の η 形結晶約 5 mg を種晶として添加した. 生成した結晶をろ取し, 乾燥させ, η 形結晶を得た.

2.8. α -A 形結晶の調製

アセトン/水混液 (アセトン 40 mL, 水 0.1 mL) に η 形結晶 10 g 及び α 形結晶 1.0 g を加え, 40°C で 24 時間攪拌し, 引き続き室温で攪拌した. 生成した結晶をろ取し, α -A 形結晶を得た.

2.9. α -B 形結晶の調製

α 形結晶 5.0 g を 2-プロパノール 100 mL に加え, 約 60°C で加温して溶解した. 室温まで冷却後, α 形結晶 50 mg を種晶として加え, 3 日間静置した. 生成した結晶をろ取し, α -B 形結晶を得た.

2.10. α -C 形結晶の調製

2.1.に示した α 形結晶の調製方法に従い調製した.

3. 試験方法

3.1. 粉末 X 線回折 (PXRD) 測定

スペクトリス製の粉末 X 線回折装置 X'Pert を用いて測定した. 測定は 40 kV/30 mA, Cu ターゲット, $K\alpha$ 線を用い, $2\theta = 5$ から 35°まで 2°/min の速度で測定した.

3.2. 示差走査熱量 (DSC) 測定

リガク製 8230 を用いて測定した。試料約 5.0 mg を開放アルミニウムパンに秤量し、100 mL/分の乾燥窒素をパージしながら昇温速度 4°C/min で測定した。

3.3. 赤外吸収スペクトル測定

JASCO 製 FT/IR-420 及び堀場製 FT-730 を使用し、臭化カリウム錠剤法により測定した。

3.4. 固体 ^{13}C 核磁気共鳴 (NMR) スペクトル測定

(1) α , β , 及び γ 形

Chemagnetics 社製 CMX Infinity 400 に CP/MAS プローブを接続して使用した。直径 4 mm のサンプルセルに試料を充填し、CP/MAS, TPPM デカップリング法により ^{13}C 核を観察した。測定条件は接触時間 5.0 m 秒, 繰り返し時間 5.0 秒, 積算回数 3000 回, サンプル回転数 12 kHz, スペクトル幅 40 kHz とした。

(2) δ , ζ , ϵ , 及び η 形

Chemagnetics 社製 CMX Infinity 400 に CP/MAS プローブを接続して使用した。直径 5mm のサンプルセルに試料を充填し、CP/MAS, TPPM デカップリング法により ^{13}C 核を観察した。測定条件は接触時間 3.0 m 秒, 繰り返し時間 5.0 秒, 積算回数 400 回, サンプル回転数 10 kHz, スペクトル幅 40 kHz とした。

3.5. 溶解度

2-プロパノール 2.0 mL に一定過量の試料を添加した。最初の 30 分間は 5 分毎に 30 秒間激しく振り混ぜ、4 時間静置した。飽和溶液を 0.45 μm のメンブランフィルターで

濾過し、メタノールで希釈し、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により分析した。HPLC 分析では、Waters 社製 486-2690 システムを使用した。カラムは、オクタデシルシリル化シリカゲルカラム (信和化学, ULTRON TDP, 4.6 mm×150 mm), 移動相は 2.5 mm/L 1-ヘキサンスルホン酸ナトリウム溶液/アセトニトリル/酢酸混液 (100 : 300 : 3) を用いた (流速 0.9 mL/min)。紫外可視吸光光度計により 250 nm の吸収の変化を測定した。溶解度は、各結晶多形につき、2 回測定した。

溶解度測定のプロセスの間の結晶転移の有無を評価するため、溶解度測定後の試料の結晶形を粉末 X 線回折により評価した。

3.6. 粉末 X 線回折データによる結晶構造解析

アクセルリス社製, マテリアルスタジオソフトウェアの Reflex Plus Module を計算に使用した。測定した ϵ , η 形結晶の PXRD パターンの帰属を行い, 最小自乗法により格子定数を決定した (Powder indexing)。次に Powder indexing で決定された空間群を精密化し, 可能な空間群を決定した (Pawley Refinement)。決められた空間群と格子定数を用いてモンテカルロ法により分子構造を発生させ, PXRD パターンを再現する構造を探索した。リートベルト解析により, 分子の各原子の位置を最小自乗法により精密化した。

3.7 化学的安定性

ST 結晶を気密容器に入れ, 60°C で保管した。経時的に試料を採取し, 化学的安定性と結晶形を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) と粉末 X 線回折 (PXRD) により評価した。HPLC 分析では, Waters 社製 486-2690 システムを使用した。カラムはフェニル化シリカゲルカラム (COSMOSIL 5Ph, 5 μ m, 4.6 mm × 150 mm, ナカライテスク),

移動相は 5 mm/L 1-オクタンスルホン酸ナトリウム溶液, 20 mm/L リン酸二水素ナトリウム溶液 (pH 2.0) /アセトニトリル/メタノール混液 (37 : 10 : 3) を用いた (流速 1.0 mL/min). 紫外可視吸光光度計により 225 nm の吸収の変化を測定した.

3.8. 等温吸収曲線

ST 結晶の水分増加量を Surface Measurement Systems 製 DVS-1 を使用し, 25°C における 10%RH~80%RH の範囲での水分吸着量の変化として測定した.

3.9. ST 結晶均質性の評価方法

懸濁上清の対掌体過剰率 (% ee) の測定

2-プロパノール 0.5 mL に ST 0.25 g を加え, 攪拌した. 30 分放置後, 上清 1.0 μ L を採取し, HPLC により対掌体過剰率を測定した. HPLC 測定は CHIRALCEL OD-H, 4.6 mm \times 250 mm を使用し, 移動相はヘキサン/エタノール/トリフルオロ酢酸/ジエチルアミン混液 (750 : 250 : 5 : 1), 流速 0.8 mL/min, 検出波長 254 nm で測定した⁴¹⁾.

溶液の対掌体過剰率 (% ee) の測定

メタノール 2.0 mL を 1.0 μ L 採取後の懸濁液に加え, 結晶を完全に溶解させた. この溶液 1.0 mL をとり, メタノールを加えて 100 mL とし, この溶液の対掌体過剰率を HPLC により測定した. HPLC 条件は上記と同じ条件とした.

参考文献

1. Blagden N, Davey R. J, Rowe R, Roberts R. 1998. Disappearing polymorphs and the role of reaction by-products: the case of sulphathiazole. *Int. J. Pharm.* 172, 169–177.
2. Maruyama S, Ooshima H. 2000. Crystallization behavior of taltirelin polymorphs in a mixture of water and methanol, *J. Cryst. Growth* 212, 239–245.
3. Brittain H.G. 2012. Polymorphism and solvatomorphism 2010 *J. Pharm. Sci.*, 101, 464–484.
4. Jones W. 1997. *Organic molecular solids. Properties and applications*, 1st ed. CRC Press, Boca Ratón, FL (USA).
5. Kawakami K. 2007. Reversibility of enantiotropically related polymorphic transformations from a practical viewpoint: thermal analysis of kinetically reversible/irreversible polymorphic transformations. *J. Pharm. Sci.* 96, 982–989.
6. Thirunahari S, Atipamula S, Chow P. S, Tan R. B. H, 2010. Conformational polymorphism of Tolbutamide: A structural, spectroscopic, and thermodynamic characterization of Burger's forms I–IV. *J. Pharm. Sci.* 99, 2975–2990.
7. Yamamoto K, Limwikrant W, Moribe K. 2011. Analysis of molecular interactions in solid dosage forms; Challenge to molecular pharmaceuticals. *Chem. Pharm. Bull.* 59, 147–154.
8. Ikeda Y, Ishihara Y, Moriwaki T, Kato E, and Terada K. 2010. A novel analytical method for pharmaceutical polymorphs by terahertz spectroscopy and the optimization of crystal form at the discovery stage. *Chem. Pharm. Bull.* 58, 76–81.
9. Tozuka Y, Ito A, Seki H, Oguchi T, Yamamoto K. 2002. Characterization and quantitation of Clarithromycin polymorphs by powder X-ray diffractometry and solid-state NMR spectroscopy, *Chem. Pharm. Bull.* 50, 1128–1130.

10. Engel G. E, Wilke S, König O, Harris K. D. M, Leusen F. J. J. 1999. Powder Solve—A complete package for crystal structure solution from powder diffraction patterns. *J. Appl. Crystallogr.* 32, 1169–1179.
11. Harris K. D. M, Tremayne M, Kariuki B. M. 2001. Contemporary advances in the use of powder X-ray diffraction for structure determination. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 40, 1626–1651.
12. Harris K. D. M, Tremayne M, Lightfoot P, Bruce P. G. 1994. Crystal structure determination from powder diffraction data by Monte Carlo methods. *J. Am. Chem. Soc.* 116, 3543–3547.
13. Neumann M. A. 2003. X-Cell: a novel indexing algorithm for routine tasks and difficult cases. *J. Appl. Cryst.* 36, 356–365.
14. Rietveld H. M. 1969. A profile refinement method for nuclear and magnetic structures. *J. Appl. Cryst.* 2, 65–71.
15. Stephenson G. A. 2000. Structure determination from conventional powder diffraction data: Application to hydrates, hydrochloride salts, and metastable polymorphs, *J. Pharm. Sci.* 89, 958–966.
16. Young R. A. Ed., 1993. *The Rietveld Method (IUCr Monographies of Crystallography 5)*. Oxford University Press, Oxford.
17. Chrzanowski F. 2008. Preformulation considerations for controlled release dosage forms: Part II- selected candidate support. *AAPS PharmSciTech*, 9, No. 2, 639–645.
18. Raijada D. K, Prasad B, Paudel. A, Shah R.P, Singh S, 2010. Characterization of degradation products of amorphous and polymorphic forms of clopidogrel bisulfate under solid state stress conditions. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 52, 332–344.
19. 螺良英郎, 小林節雄, 牧野荘平, 高橋昭三, 宮本昭正, 信太隆夫, 川合満, 岸本進, 中島重徳, 小川暢也. 1992. 抗アレルギー剤 IPD-1151T (トシル酸スプラタスト) カプセルの成人気管支喘息に対する薬効検討 トラニストを対掌とした多施設二重盲検比較試験. *医学のあゆみ*, 162, 171-192.

20. 馬場駿吉, 高坂知節, 馬場廣太郎, 斉藤洋三, 板倉康夫, 岩田重信, 西村忠郎, 石川哮, 小川暢也. 1992. IPD-1151T の通年性鼻アレルギーに対する臨床評価-Tranilast を対照とする二重盲検比較試験. 炎症, 12, 379-397.
21. 馬場實, 三河春樹, 赤坂徹, 森川昭廣, 鳥居新平, 西間三馨, 中島光好. 2003. 小児気管支喘息に対するトシル酸スプラタスト ドライシロップ (IPD-DS) の臨床評価-ペミロラストカリウム ドライシロップを対照とした二重盲検比較試験-新薬と臨床, 52(4), 477-503.
22. Elliel E.L, Wilen S.H, Mander L.N, 1994. Stereochemistry of organic compounds. J. Wiley & Sons, New York, 159-162.
23. Jacque J, Collet A, Wilen S. H, 1981. Enantiomers, racemates and resolutions. J. Wiley & Sons, New York, 104-130.
24. Ushio T, Tamura R, Takahashi H, Yamamoto K. 1996. Unusual enantiomeric resolution phenomenon observed upon recrystallization of a racemic compound. Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 35, 2372-2374.
25. 生塩孝則, 博士論文, 千葉大学, 1997.
26. Tamura R, Fujimoto D, Lepp Z, Misaki K, Miura H, Takahashi H, Ushio T, Nakai T, Hirotsu K, 2002. Mechanism of preferential enrichment, an unusual enantiomeric resolution phenomenon caused by polymorphic transition during crystallization of mixed crystals composed of two enantiomers. J. Am. Chem. Soc. 124, 13139-13153.
27. Ushio T, Endo K, Takahashi H, Yamamoto K, 1996. Physicochemical properties of Suplatast Tosilate racemate and enantiomers, Yakugaku Zasshi 116, 866-875.
28. Takahashi H, Tamura R, Lepp R.Z, Kobayashi K, Ushio T, 2001. Preferential enrichment: An essential crystal structure. Enantiomer 6, 57-66.
29. Ushio T, Tamura R, Azuma N, Nakamura K, Toda F, Kobayashi K. 1996. Polymorphism of compound existing as both racemic compound crystals and mixed crystals of enantiomers. Mol. Cryst. Liq. Cryst. 276, 245-252.

30. Miura H, Ushio T, Nagai K, Fujimoto D, Lepp Z, Takahashi H, Tamura R. 2003. Crystallization of a desired metastable polymorph by pseudoseeding, crystal structure solution from its powder X-ray diffraction data, and confirmation of polymorphic transition. *Cryst. Growth Des.* 3, 959–965.
31. Kuroda K, Yokoyama T, Uneda T, Kira Y, Konishi A, Kuroda T. 1979. Studies on drug nonequivalence VIII, solubilities of polymorphs and hydrate of mercaptoprine, *Yakugaku Zasshi* 99, 745–751.
32. Kitamura M, Ishizu T. 1998. Kinetic effect of L-phenylalanine on growth process of L-glutamic acid polymorph. *J. Cryst. Growth* 212 192, 225–235.
33. Addadi L, Berkovich-Yellin Z, Domb N, Gati E, Lahav M, Leiserowitz L. 1962. Resolution of conglomerates by stereoselective habit modifications. *Nature* 296, 21–26.
34. Mesley R. J, Clements R. L. 1967. Infrared identification of barbiturates with particular reference to the occurrence of polymorphism. *J. Pharm. Sci.* 20, 341–347.
35. Yang S. S, Guillory J. K. 1972. Polymorphism in sulfonamides. *J. Pharm. Sci.* 61, 26–40.
36. Pauling L. 1960. *The nature of the chemical bond*, third ed. Cornell University Press, New York (USA). 479–480.
37. Gerenez D. 1866. Separation des tartrates garuches et des tartrates droits, al'aide des solutions sursature. *C.R.Acad.Soc.*, 63, 843.
38. Tamura R, Iwai S, Takahashi H. 2010. Chiral symmetry breaking phenomenon caused by a phase transition. *Symmetry*, 2, 112–135.
39. Iwama S, Kuyama K, Mori Y, Manoj K, Gonnade R. G, Suzuki K, Hughes C. E, Williams P.A, Harris K. D. M, Veessler S, Takahashi H, Tsue H, Tamura R. 2014. Highly efficient chiral resolution of DL-Arginine by cocrystal formation followed by recrystallization under preferential enrichment conditions. *Chem. Eur. J.*, 20, 10343 – 10350.

40. Gonnade R G, Sugiwake S. I. R, Manoj K. Takahashi H, Tsue H, Tamura R. 2012. Occurrence of spontaneous resolution of ketoprofen with a racemic crystal structure by simple crystallization under nonequilibrium preferential enrichment conditions Chem. Commun., 48, 2791-2793.
41. Ushio T, Yamamoto K. 1994. High-performance liquid chromatography of enantiomers of {2-[4-(3-ethoxy-2-hydroxypropoxy)phenylcarbamoyl]ethyl}-dimethylsulfonium *p*-toluenesulfonate (suplatast tosilate) on a cellulose tris-3,5-dimethylphenylcarbamate column. J. Chromatogr. A 684, 235–242.

論文目録

本学位論文内容は下記の発表論文による。

1. Nagai K, Ushio T, Miura H, Nakamura T, Moribe K, Yamamoto K. 2014. Four new polymorphic forms of suplastast tosilate. *Int. J. Pharm.* 460, 83–91.
2. Nagai K, Ushio T, Miura H, Moribe K, Yamamoto K. 2015. Effect of enantiotropic uniformity of polymorphic crystals on the chemical stability of suplastast tosilate. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* 27, 37–45.

主査, 副査名

本学位論文の審査は千葉大学大学院薬学研究院で指名された下記の審査委員により行われた。

主査	千葉大学大学院教授 (薬学研究院)	薬学博士	戸井田 敏彦
副査	千葉大学大学院教授 (薬学研究院)	工学博士	根矢 三郎
副査	千葉大学大学院客員教授 (薬学研究院)	Ph. D.	山下 純