

貧溶媒晶析と脱水の迅速監視

概要

医薬品化合物の多型や水和物が異なると、溶解度や、それによって生体利用率も異なる可能性があるため、医薬品成分の晶析は非常に重要です。正しい結晶型を得るためには、管理された方法で晶析を実施しなければならないため、*in situ*（その場）で結晶を監視する方法が必要となります。

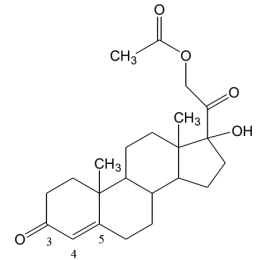


図1: 酢酸コルチゾン (CA)

特長

- 晶析プロセスの *in situ* 監視および結晶の非接触分析
- ラマン分光法の特異性により、水和物と無水物を含む固体状態の結晶型を識別することが可能
- 分光計の安定性により、混合物中の結晶型を定性的に識別し、定量化することが可能

ラマン分光法は、医薬品化合物の異なる結晶型を迅速に識別するのに非常に有効です。こうした違いは、多くの場合、特徴的なラマンバンドの出現や消失、あるいは波数位置のシフトによって追跡できます。ラマン分光法は、アプリケーションの要件に応じて、*in situ* 浸漬プローブや非接触式プローブと組み合わせて使用できます。ラマン分光法はサンプルの調製を必要とせず、非破壊的です。本稿では、晶析の進行を監視し、保存中の結晶の脱水を監視するためのラマン分光法アプリケーションについて説明します。

実験

酢酸コルチゾン (CA、図1) を用いて晶析が行われました。アセトン (87.00%)、水 (10.50%)、CA (2.50%) の三成分系溶液に、制御された方法で水が添加されました。晶析は、0.25、0.50、1.00 mL/分の3段階の水の添加速度で実施しました。ラマンスペクトル（各5秒間、積算5回の合計）を1分間隔で取得しました。結晶を分離し、シンチレーションバイアルに保存して、ラマン分光法で相変化を毎日監視しました。

ラマンスペクトルはラマン分光計を用いて取得しました。データの分析には、主成分分析 (PCA) が使用されました。

結果

最も注目すべきラマンシフト領域は $1610 \sim 1680 \text{ cm}^{-1}$ であり、この領域には、 $1600 \sim 1625 \text{ cm}^{-1}$ と $1660 \sim 1680 \text{ cm}^{-1}$ の2つのピークが含まれます。前者は C4 の二重結合に、後者は C3 のカルボニルに対応します。結合の共役により、 π 電子が非局在化して各二重結合の電子密度が低下することで、ピークは低波数側にシフトします。

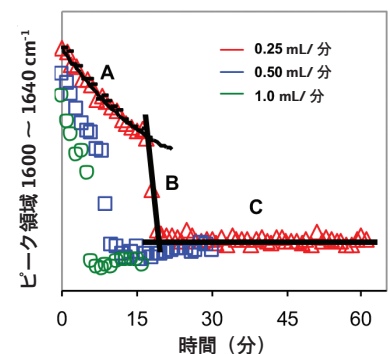


図2: 晶析の進行に伴う $1600 \sim 1640 \text{ cm}^{-1}$ (溶質バンド) でのベースラインピーク領域の変化 (許可を得て参考資料1を転載。Copyright © 2003 American Chemical Society)

晶析実験は、上記のように行われました。CA/アセトン溶液に水を加えると、CAの溶解度は、CAが核となって溶液から晶出するまで低下し、溶液中のCA濃度は急激に低下しました。この結晶化は、関連するバンドの領域内における急激な低下として図2に表されます。また、結晶による集光オプティックからの光の散乱も、強度低下の一因となっています。

① このアプリケーションノートに記載されているラマン分光計とプローブはすべて、Kaiserラマンテクノロジーを搭載したEndress+Hauser製品です。

実験の各段階における CA 結晶のスペクトルを図 3 に示します。

データは検量線モデルを使用せずに分析されました。これが可能なのは、ラマン分光計には可動部品がなく、信号ドリフトが無視できるほど小さくて安定性が非常に高いからです。

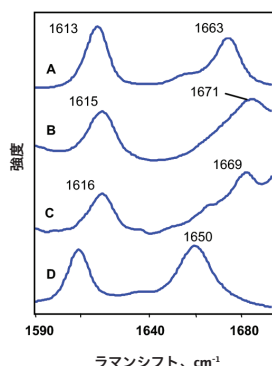


図 3: 酢酸コルチゾンのスペクトル: (A) 結晶、(B) 溶液内、(C) スラリー内、(D) 乾燥後 (許可を得て参考資料 1 を転載。Copyright © 2003 American Chemical Society)

固体分析

結晶化後、結晶を採取し、光学顕微鏡、ラマン分光法、示差走査熱量測定法 (DSC) による分析が行われました。生成された結晶の大きさは、貧溶媒の添加速度に反比例して変化しました (図 4)。保存中の結晶は、定期的にラマン分光法により監視されました。約 1 週間かけて、 1606 cm^{-1} のピークに徐々にショルダーが形成され、最終的に 1605 および 1613 cm^{-1} でダブルレットになりました (図 5)。 1650 cm^{-1} のピークは 1651 cm^{-1} にシフトし、 1669 cm^{-1} にショルダーが形成されました。

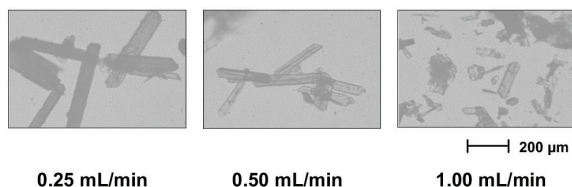


図 4: 3 つの実験から得られた酢酸コルチゾン結晶。3 つの画像の倍率は同じです。(許可を得て参考資料 1 を転載。Copyright © 2003 American Chemical Society)

DSC の結果、転移していない結晶では $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ で吸熱反応が見られましたが、転移した結晶では吸熱反応が見られなかったことから、これらの結晶は格子からゆっくりと水分を失う水和物であることが強く示唆されました。

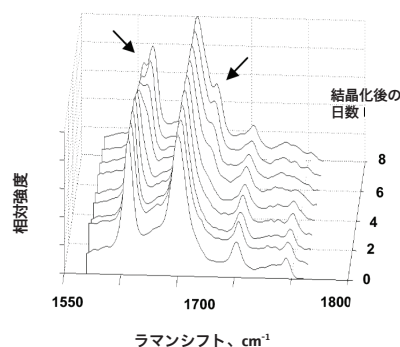


図 5: 結晶化後の CA のラマンスペクトル。脱水によるピークの変化が矢印で示されます。(許可を得て参考資料 1 を転載。Copyright © 2003 American Chemical Society)

PCA

晶析実験から得られたラマンデータは PCA で分析されました。最初の 2 つの因子には、生のスペクトルで明らかだった情報が含まれていました。一方、結晶化の時間に対してプロットした 3 つ目の因子は、最大値まで増加し、その後次第に減少しました。溶液が飽和したときに最大値を示すことが判明したため、この手法によって過飽和の開始を特定することができました。したがって、この因子は貧溶媒添加中の溶媒 / 溶質相互作用に対応していると考えられ、生のスペクトルから得られる以上の情報を提供します。

結論

ラマン分光法は、晶析プロセスの監視や固体状態の同定に有用なツールです。ラマン分光法はプロセスに関する知識を向上させ、医薬品として重要な従来の低分子化合物や高分子バイオ医薬品のリアルタイムでのプロセス監視・制御のための入力情報として機能します。

参考資料

1. Falcon, J.A. and Berglund, K.A. Monitoring of Antisolvent Crystallization with Raman Spectroscopy Crystal Growth & Design, Vol. 3, Issue 6, 2003, 947.