

PAT in situ技術を用いた 無水物/水和物の定量化

特長

- 4つのAPIの水和状態の定量化
- 可能なin situPAT分光技術の比較
- 代表的なラマンサンプリングの利点

概要

原薬（API）に役立つ水和状態を識別して特定する必要性は、多型評価の必要性と同様に重要であると考えられます。¹しかし、API製造中に把握され、管理されていたとしても、製剤製造中には、望ましい形態からのプロセス誘起変化が生じる可能性があります。このような変化は医薬品の効能に影響を及ぼす可能性があるため、製造単位工程中に固体の形態を定量化する必要があります。従来、得られた粉末を識別し、バッチをリリースするか不合格にするかを判断するためにオフラインのX線回析（XRD）法が使用されてきました。XRDは、侵襲的で時間がかかり、サブサンプリング（不均一な混合物の代表的でない画分を分析すること）が起こりやすいものです。米国食品医薬品局（FDA）の最近のPATイニシアチブは、オフライン試験に固有の非効率性と潜在的なエラーを軽減するためのインプロセス試験の枠組みを提供することで、医薬品製造の改善を目指しています。

ラマン分光法は、PAT技術として評価されています。本研究では、ラマン分光法を使用して、ニトロフラントイン、テオフィリン、カフェイン、カルバマゼピンの4つのモデルAPI化合物の水和状態（無水物/一水和物）を定量化しました。

実験

水和物の形成には2つの方法が採用されました。ニトロフラントインとテオフィリンについては、無水物を高い相対湿度にさらすことで固相転移する方法が用いられました。カフェインとカルバマゼピンには、変換プロセスとして冷却再結晶化が使用されました。その後、無水物と水和物の含有量が異なる2成分キャリブレーション混合物を調製しました。混合物の組成は、主な方法としてXRDを用いて特定されました。

ラマンスペクトルは、広範囲サンプリング用のプローブを装備したラマン分光計を用いて収集しました。スペクトルの収集には、約100 mWのレーザー出力が使用されました（積分時間1秒、積算8回）。

使用されたNIRシステムは、Control Development, Inc.製の小型NIR分光計で、6本の照明用ファイバーと1本の収集用ファイバーを使用する光ファイバープローブが付いています。スペクトルは、5ミリ秒の積分時間、積算64回で収集されました。

結果

ニトロフラントインの混合物について、水和物の量を増加させた場合のNIRスペクトルを図1に示します。主な特徴は結晶水に関係しています。1420 nmと1920 nmのバンドは、結晶格子に取り込まれた水分子に対応するものです。1600～1800 nmと1960～2000 nmのバンドも観察されました。ここで注目すべきは、無水物/水和物の4つの薬剤ペアすべてに、特徴的なスペクトル特性が観察されたことです。

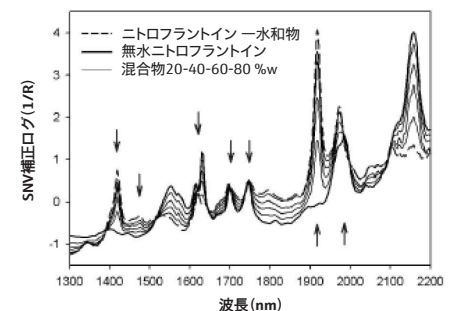


図1：ニトロフラントイン2成分混合物のNIRスペクトルを示します。一水和物に対応する主な特徴が確認されました。

図の使用許可：図は出版社の許可を得て参考資料2より再利用、© SAGE Publications. 無断複写・転載を禁じます。

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。

すべての薬剤ペアにおいて、特徴的なラマン特性が見られました。ニトロフラントインの量を変えたラマンスペクトルを図2に示します。ニトロフラントインの無水物と水和物の間のピークシフトは、約 1348、1383、1431、1565、1610 cm^{-1} で観察されました。

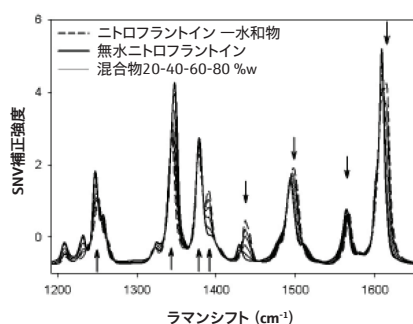


図2：ニトロフラントイン2成分混合物のラマンスペクトルを示します。一水和物に対応する主な特徴が確認されました。
図の使用許可：図は出版社の許可を得て参考資料2より再利用、
© SAGE Publications. 無断複写・転載を禁じます。

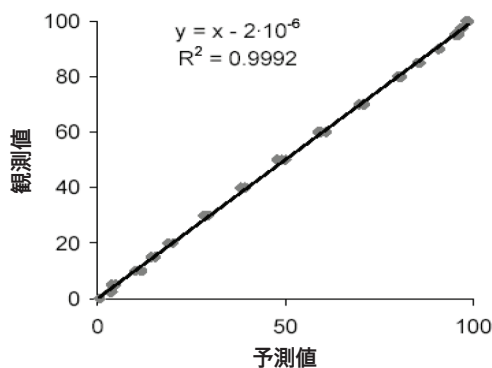


図3：大きなスポットサイズと固定サンプルでラマンプローブを使用した場合のニトロフラントインの観測値と予測値のプロット。
図の使用許可：図は出版社の許可を得て参考資料2より再利用、
© SAGE Publications. 無断複写・転載を禁じます。

モデリングの前に、データの前処理と正規化が行われました。いくつかの手法が検討され、標準正規変量 (SNV) 法とそれに続くデータセンタリング法が選択されました。

2成分水和物混合物の分析には、単変量と多変量データ解析両方によるキャリブレーション手法が使用されました。図3は、ラマンシステムから得られたニトロフラントインの観測値と予測値のプロットを示しています。相関係数とクロスバリデーション係数、XRD および NIR の結果と同等であることが判明しました。

結論

追加の実験により（ここでは報告されていない）、従来の小さなスポットサンプリングを採用するラマン法では、サブサンプリングが発生しやすく、この手法の精度が制限されることがわかりました。² ここで報告する実験では、サンプル回転を伴う、大きなスポット（3 mm）のラマンプローブをベースとするシステムを使用することで、6 mm のスポットサイズとサンプル回転を採用した NIR 法と同等の結果が得られました。この結果は、代表的なサンプルリングがこのアプリケーションの成功に不可欠であることを示しています。さらに、分析するサンプル量を増やすことで、ラマン分光法が固体混合物の調査に適用可能であることが実証されました。

調査した両方の分光法では、研究対象となった4つの薬剤化合物すべてについて、無水物と水和物の濃度特性を評価できることが判明しました。このような研究結果はありますが、どちらかの分光法を選択して特定の医薬品単位操作に組み込む場合は、その前に操作パラメータと API 固有の化学組成を検討して、手法の適合性を確認することが必要となります。

参考資料：

1. Esmonde-White, K. A.; Cuellar, M.; Uerpmann, C.; Lenain, B.; Lewis, I. R. Raman Spectroscopy as a Process Analytical Technology for Pharmaceutical Manufacturing and Bioprocessing. *Anal Bioanal Chem* **2017**, 409 (3), 637–649.
2. Rantanen, J.; Wikström, H.; Rhea, F. E.; Taylor, L. S. Improved Understanding of Factors Contributing to Quantification of Anhydrate/Hydrate Powder Mixtures. *Appl Spectrosc* **2005**, 59 (7), 942–951.