

低波数ラマン分光法を用いた難水溶性薬物の溶出及び結晶化過程のモニタリング

## Monitoring Dissolution and Crystallization Processes of Poorly Water-Soluble Drug Using Low Frequency Raman Spectroscopy

令和元年度入学 工藤嵩之 (Kudo, Takayuki)

多様化が進む医薬品のモダリティの中にあっても、今もなお低分子医薬品は主要なモダリティの一つである。しかしながら、低分子創薬のターゲットの減少による化学構造の複雑化と、薬理活性向上のための疎水性官能基の導入により、難水溶性薬物の割合が増加している。難水溶性薬物の溶解性改善のアプローチの一つに、薬物分子の結晶形態を制御する結晶工学（クリスタルエンジニアリング）が挙げられる。薬物単体からなる結晶多形（非晶質も含む）の制御あるいは塩や共結晶等の複合結晶化技術による制御を基軸としたアプローチであり、これにより原薬の溶解性や物理化学的性質を改善することが可能となる。原薬の結晶性を分析評価するための技術としては粉末 X 線回折法が最も一般的であるが、ラマン分光法は前処理不要、非破壊・非接触で測定可能という特徴を有することから、医薬品品質評価やプロセス分析技術ツールの 1 つとして注目されている。従来主流であった通常領域（ $200\sim 2000\text{ cm}^{-1}$ ）のラマンスペクトルからは官能基の情報が高感度に得られるのに対し、近年開発が進んだ低波数（Low frequency、LF）領域（ $5\sim 200\text{ cm}^{-1}$ ）のラマンスペクトルからは特に格子振動や分子間相互作用といった結晶構造に関する情報が得られることから、原薬の結晶形態の分析に最適な分析手法として注目されている。

本研究では、難水溶性薬物の溶出及び結晶化過程のモニタリングに LF ラマン分光法を適用し、その有用性について評価した。第 1 章では難水溶性薬物のアルテミシニン (ART) の共結晶について、共結晶スクリーニングで得られた新規共結晶に対して溶出試験を行い、共結晶からの薬物の溶出挙動を定性的に *in-situ* でモニタリングした。さらに、そこで得られた知見から、共結晶からの薬物の溶出過程を考察した。第 2 章では carbamazepine (CBZ) をモデル化合物として、医薬品原薬の多形転移の過程を *in-situ* でモニタリングし、結晶多形の識別を行った。さらに、LF ラマン分光法と多変量解析を組み合わせることで、原薬溶解過程及び結晶化工程中に各結晶多形の定量が可能なモデルの構築を試みた。

## 1. ART 新規共結晶の溶出挙動モニタリング<sup>1)</sup>

ART と 83 種類のコフォーマーを用いて溶媒添加粉碎法 (LAG 法) により網羅的共結晶スクリーニングを実施した結果、2-メチルレゾルシノール (2MRE) との組み合わせにおいて、共結晶の形成が示唆された。スケールアップのためにスラリー法の検討を行い、LAG 法で得られた試料と同様の粉末 X 線回折パターンを示す試料が得られた。本試料について単結晶を調製し、単結晶 X 線構造解析を実施した結果、ART-2MRE 共結晶は ART と 2MRE が化学量論比 2:1 で構成された共結晶であることが明らかとなった。ART とレゾルシノール (RES) との共結晶は既報であるが、2MRE との共結晶はそれと非常に類似した結晶構造をとっていることがわかった。

ART と各コフォーマーの構造式を  
図 1 に示す。

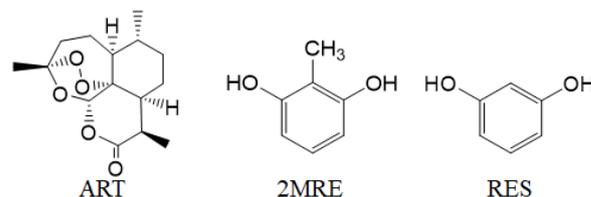


図 1 ART とコフォーマーの構造式

共結晶化による溶解性への影響を評価するために、ART 安定形を比較対照として ART-2MRE と ART-RES の共結晶の溶出試験を日本薬局方溶出試

験第 2 液 (JP2<sup>nd</sup>、pH 6.8) にて実施した。その結果、ART-2MRE が最も速い ART 濃度上昇を示した (図 2)。

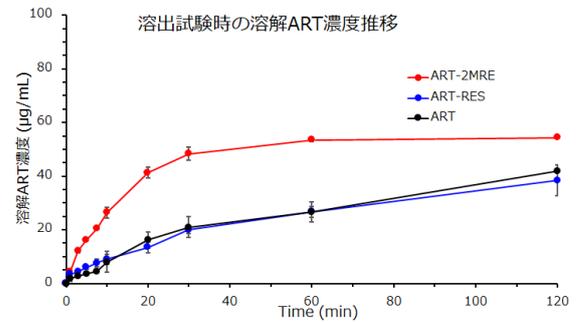


図 2 ART 及びその共結晶の溶解 ART 濃度推移

溶出試験での共結晶溶解時における結晶状態のモニタリングを目的

に、プローブ型 LF ラマン分光装置を用いて検討した。その結果、ART-2MRE では、ART-2MRE 共結晶に特徴的なピークから ART 安定形に特徴的なピークへ経時的なシフトが認められ、試験開始 15 分後には大部分が安定形に転移していると推察された (図 3 左)。

一方で、ART-RES では、ART-RES

共結晶に特徴的なピークは 20 秒ほどで ART 安定形に特徴的なピークにシフトまたは減衰してピークが認められなくなり、非常に速く安定形への転移がおこっていると推察された (図 3

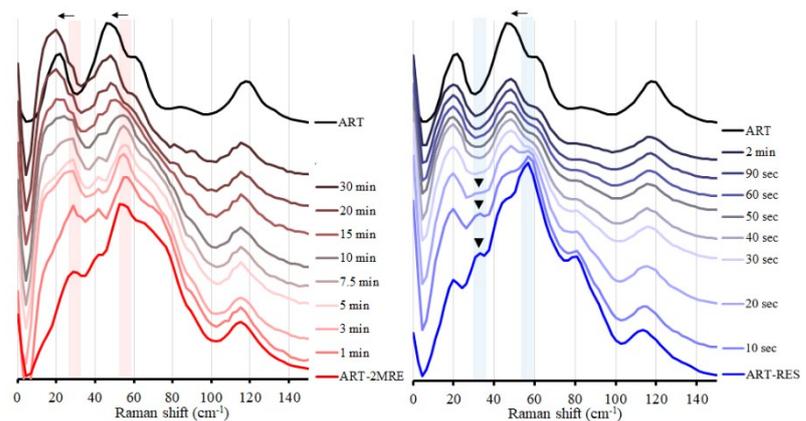


図 3 左 : ART-2MRE のラマンスペクトルの経時変化  
右 : ART-RES のラマンスペクトルの経時変化

右)。これらラマンスペ

クトルの経時変化により示唆された安定形への転移の速さは溶出試験の結果と整合しており、共結晶が溶解し ART 安定形への転移が速いほど、ART 安定形に近い溶解 ART 濃度推移を示すと考察した。

次に、共結晶から安定形への転移と、溶出性との関係をさらに評価するために、再結晶化を抑制するポリマーであるヒドロキシプロピルメチルセルロース (HPMC) を溶出試験液に加えて同様の実験を行った。ART 安定形は最も遅い濃度上昇を示し、ART 準安定形と ART-RES はそれよりもわずかに速い溶出を示したのに対し、ART-2MRE は大きく溶解性が改善し、一時的な過飽和とその解消を示す溶解 ART 濃度推移を示した (図 4 左)。

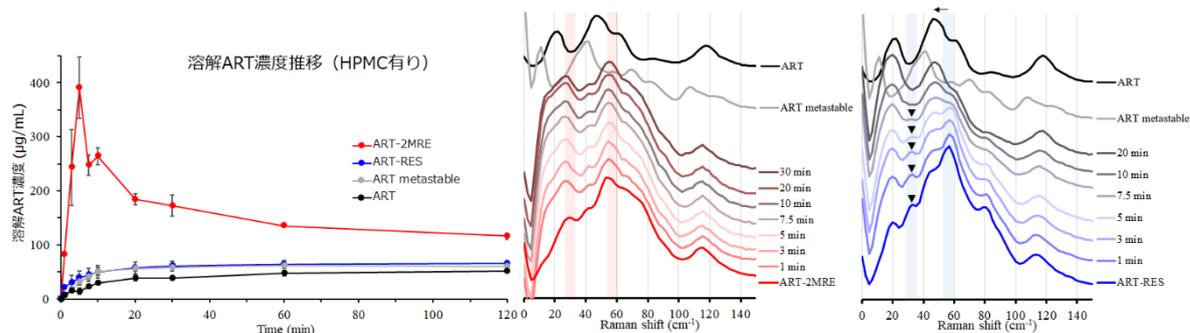


図 4 左：HPMC を含む試験液での ART、ART 準安定形及びその共結晶の溶解 ART 濃度推移  
 中央：HPMC を含む試験液での ART-2MRE のラマンスペクトルの経時変化  
 右：HPMC を含む試験液での ART-RES のラマンスペクトルの経時変化

ラマンスペクトルのモニタリングの結果、HPMC を含む試験液での溶出過程において、ART-2MRE ではピークのシフトは認められず共結晶が残っていることが示唆されたが、ART-RES では共結晶に特徴的なピークの経時的な消失と安定形に特徴的なピークへのシフトが認められた（図 4 中央及び右）。これらの結果に加えて、粉末 X 線回折測定の結果及び目視での観察結果、さらには 2MRE と RES の溶解度を含めて考えると、ART-2MRE の共結晶としての溶解は遅く、共結晶を維持したまま ART の溶解が進むのに対して、ART-RES の共結晶としての溶解は共結晶の表面近傍において早く進み、同時に安定形としての析出も早く進むのではないかと考察した。

## 2. CBZ 結晶多形の溶解及び結晶化過程のモニタリング<sup>2)</sup>

第 1 章では LF ラマン分光法を用いて定性的なモニタリングを実施したが、第 2 章ではさらに多変量解析を組み合わせ各結晶形が定量できる検量モデルの構築を試みた。共結晶からの溶出過程は系中の薬物の分布が不均一で複雑であり、感度の面からも定量化が難しかったため、結晶多形を持つ CBZ をモデル化合物とし、メタノール中懸濁液の昇温及び降温による溶解及び結晶化過程を *in situ* でモニタリングすることを目的とした。

検量モデル構築のために、検量データセットとして、CBZ の準安定形 (CBZ I) または CBZ 安定形 (CBZ III) を CBZ の飽和メタノール溶液に加え、非溶解 CBZ 量として 0~500 mg を含む 11 水準 (各 n=3) の計 33 の懸

濁液を調製した。また検量モデルの真度を評価するために、バリデーショ  
ンセットとして各結晶多形 6 濃度水準の計 12 の懸濁液を調製した。LF ラ  
マン分光法により取得したラマンスペクトルの各波数の散乱強度を説明変  
数、各結晶形の懸濁液中に固体として存在する非溶解の CBZ 量を目的変数  
とした多変量検量モデルを、部分的最小二乗回帰分析を用いて構築した。  
複数のラマンスペクトルの前処理手法、及び検量モデル構築に使用する  
PLS ファクター数を比較検討した上で、図 5 に示す各結晶多形の PLSR の  
多変量検量モデルが得られた。検量モデルは良好な予測結果を示した。

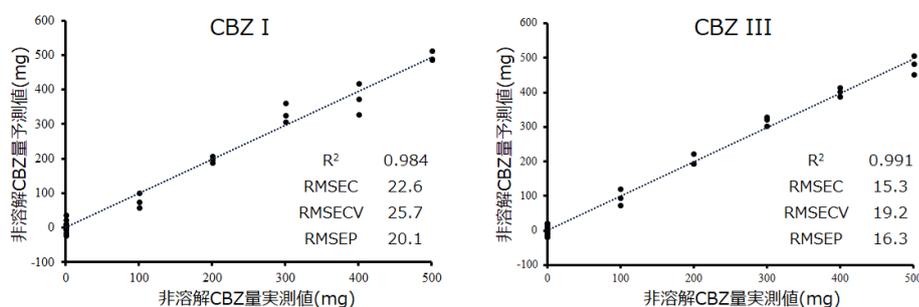


図 5 メタノール懸濁液中の非溶解 CBZ 含量の実測値及び予測値プロット (左 : CBZ I 右 : CBZ III)

CBZ 結晶多形の溶解及び結晶化への検量モデルの適用は、3.5 mL のメ  
タノール中 CBZ 飽和溶液に、さらに 500 mg の CBZ I を追加したサンプル  
を用いて検証した。サンプルを 20°C から 60°C に +2°C/分の速度で上昇さ  
せ、60°C で 20 分間保持した後、60°C から 20°C に -0.5°C/分の速度で冷却し  
た。ラマンスペクトルを 120 秒ごとに測定した結果の一部を図 6 左に、構  
築した検量モデルを用いて各結晶多形の時間変化を定量した結果を図 6 右  
に示す。試験開始時に見られた CBZ I に特徴的なピークは、温度上昇に  
よる CBZ I の溶解と共に消失し、その後の温度下降による結晶化によ  
り、安定形である CBZ III に特徴的なピークの強度の上昇が認められた。  
また、得られた定量結果は、懸濁液の画像とも相関していた。以上の結果  
より、LF ラマン分光法が、結晶多形を持つ化合物の結晶化プロセス中  
に、薬物の結晶形をリアルタイムで容易かつ非破壊的にモニタリングでき

る有用なプロセス分析技術ツールとなりうる可能性が示唆された。

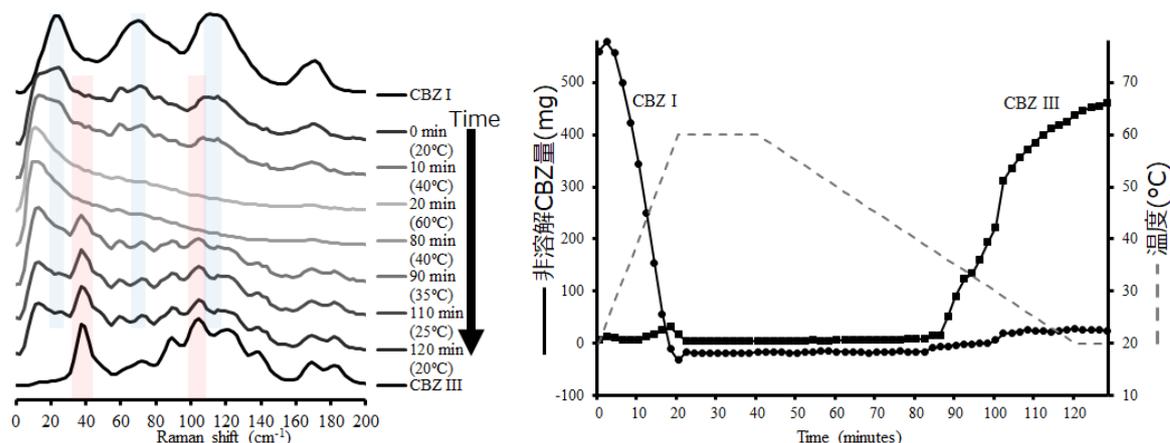


図 6 左：代表的な時点のラマンスペクトル（青が CBZ I、赤が CBZ III に特徴的なピークを示す領域）  
右：多変量解析によって得られた非溶解 CBZ 量（左軸）の時間変化と温度（右軸）の時間変化

## 総括

ART を用いた共結晶の検討では 2MRE との新規共結晶 ART-2MRE を見出し、その結晶構造が既報である ART-RES と類似していることを明らかにした。ART-2MRE 及び ART-RES からの薬物の溶出過程を LF ラマン分光法でモニタリングすることにより、溶出の過程を詳細に考察することが可能であった。CBZ を用いた結晶多形の検討では、LF ラマン分光法と多変量解析を組み合わせることで、懸濁液中での原薬溶解過程及び結晶化工程において各結晶多形の非溶解 CBZ 量の定量が可能なモデルの構築に成功した。以上の成果は、医薬品開発における LF ラマン分光法の有用性を示すものである。

## 参考文献

- 1) Monitoring the dissolution behavior of novel pharmaceutical cocrystals consisting of antimalarial drug artemisinin with probe-type low-frequency Raman spectrometer.  
Kudo T., Miura S., Takatori K., Titapiwatanakun V., Palanisamy V., Yamamoto K., Ikeda Y., Fukami T., *Appl. Spectrosc.*, **78**, 1125–1135 (2024).
- 2) *In-situ* monitoring of dissolution and crystallization processes of carbamazepine using low-frequency Raman spectroscopy and multivariate analysis.  
Kudo T., Uchida H., Yamato M., Ohashi R., Palanisamy V., Fukami T., *Chem. Pharm. Bull.*, **73**, 58–62 (2025).