

In-Situ UV モニタリングシステム μ DISS を用いた 難溶性化合物の Induction time および Precipitation rate の測定

フィジオマキナ株式会社 応用技術研究所 CTO 武田日出夫 Hideo Takeda

【はじめに】

過飽和溶液から物質が析出する場合、はじめに、溶液中に結晶の核が生成する。その後、結晶の増加と成長に伴い、溶液中の物質濃度が低下する。晶析操作や、難溶性化合物の可溶化検討において、過飽和溶液中での結晶の生成と溶液中の濃度変化は重要な評価項目である。

本アプリケーションノートでは、過飽和結晶の核が生成するまでの時間である誘導時間(Induction time)および物質の析出速度(Precipitation rate)を μ DISS システムと Predictor ソフトウェア(いずれも Pion, Inc.)を用いて算出する手法を紹介する。

【 μ DISS と Predictor ソフトウェア】

Pion, Inc.の μ DISS システム(図 1)は、 ~ 20 mL の少量の試験液で溶出試験を実施することのできるシステムである。 μ DISS システムは In-Situ UV プロブを備えており、試料溶液中の物質濃度をろ過や希釈を行わずにリアルタイムでモニタリングすることができる。そのため、過飽和溶液の濃度測定に強みがあり、欧米や日本を含むアジアなど、多くの研究機関、大学、企業の研究部門等で使用されている。

Predictor ソフトウェアは、2023 年にリリースされた μ DISS などで取得されたデータの解析用ソフトウェアである。ヒトにおける %Fa 予測など様々な機能を備えたソフトウェアであるが、本アプリケーションノートでは Induction time 解析と

Precipitation rate 解析に焦点を当てる。



図 1 μ DISS システムの外観。最大 8ch で同時にデータを取得することが可能である。

【Induction Time】

<試験手順の例>

μ DISS 用 24 mm バイアルにスターラーを入れ、試験液(事前に脱気し、 37°C に加熱した液)を分注する。

試験開始とともに被験物質の高濃度溶液(例: 2.0 mg/mL の濃度で調製した DMSO 溶液)を試験液に滴下し、攪拌を開始する。滴下後、120 分間攪拌と濃度モニタリングを継続する(図 2)。



図 2 μ DISS システムを用いた Induction Rate Assay の実行。

<データの解析>

Predictor ソフトウェア上で時間-濃度曲線を開き、Assay Type を”Induction time”に設定する。Induction time 解析では、析出の最初のタイムポイント、(濃度が低下し始めるタイムポイント)を決定する操作を行う。

時間-濃度曲線上で、濃度が一定の時間領域を選択すると、選択した範囲内で線形近似が行われ、近似直線が作成される。Predictor ソフトウェアは、濃度が近似直線から逸脱する点を自動的に認識し、その時点を Induction time として表示する(図3)。

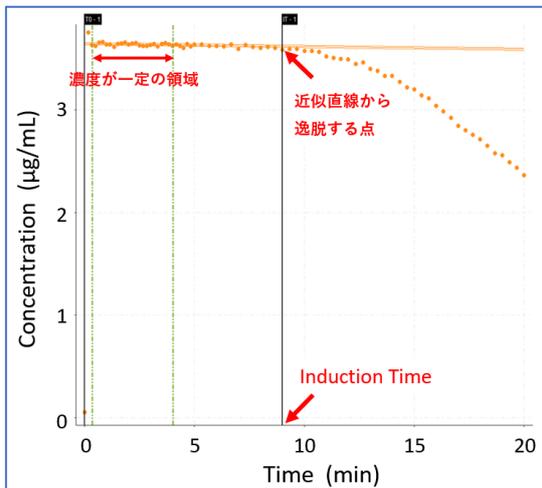


図3 Predictor ソフトウェア上で表示させた Induction time Assay の時間-濃度曲線。例として、アリピプラゾールの析出挙動を示す。

アリピプラゾールの初期濃度を 0.5µg/mL~9.5µg/mL の範囲で変化させ、Induction time 測定を行った結果を図4に示す。一般的に、Induction time は図5のように発生確率に従い分布する。アリピプラゾールを用いた試験例においても、低過飽

和度領域においては Induction time が広く分布し、高過飽和度領域においては、Induction time が収束する結果が得られた。

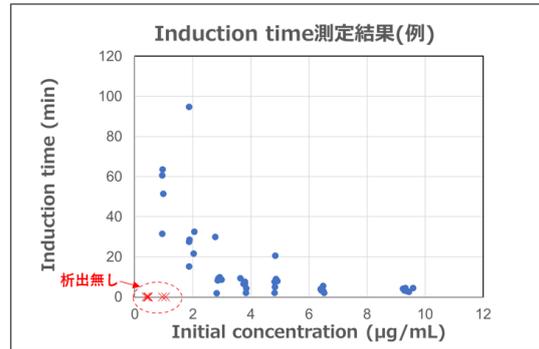


図4 測定結果(例) アリピプラゾールの初期濃度を変化させた場合の Induction time の分布。(溶媒：溶出試験第2液)

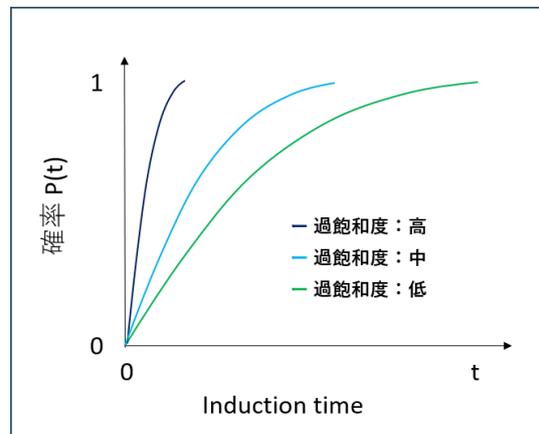


図5 過飽和度が異なる場合の Induction time の分布イメージ。

【Precipitation Rate】

<試験手順の例>

Precipitation rate(析出速度)試験は、Induction time(誘導時間)試験と同手順にて実施することができる。即ち、同一の試験

から Induction time と Precipitation rate を算出することが可能である。

<データの解析>

Predictor ソフトウェア上で時間-濃度曲線を開き、Assay Type を”Precipitation rate” に設定する。Precipitation rate 解析では、析出速度の最大値を決定する操作を行う。時間-濃度曲線上で、濃度低下速度が最も大きいタイムポイント(時間-濃度曲線の傾きが最小の点)と濃度がプラトーに達した点を含むように計算領域を選択する(図6)。領域を選択すると、選択した範囲内で曲線近似が行われ、近似曲線が作成される。Predictor ソフトウェアは、濃度が近似曲線の傾きから Precipitation rate を算出する。

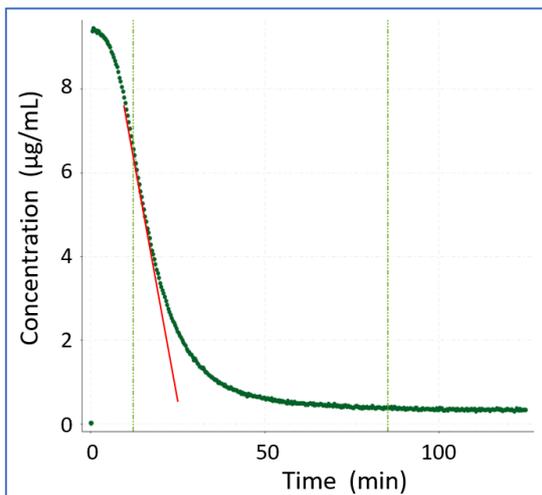


図6 Predictor ソフトウェア上で表示させた Precipitation rate Assay の時間-濃度曲線。例として、アリピプラゾールの析出挙動を示す。

アリピプラゾールの初期濃度を 0.5µg/mL~9.5µg/mL の範囲で変化させ、Precipitation rate 測定を行った結果を図7に示す。アリピプラゾールの初期濃度の増加に伴い、Precipitation rate も増加する挙動が得られた。

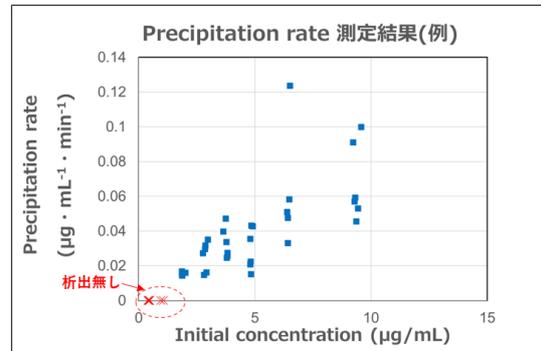


図7 測定結果(例) アリピプラゾールの初期濃度を変化させた場合の Precipitation rate の分布。(溶媒：溶出試験第2液)

【まとめ】

本アプリケーションノートでは難溶性化合物の Induction time と Precipitation rate の測定例を示した。例示した以外にも、µDISS は人工胃液、腸液を用いた胃腸管様環境での試験や、共結晶を用いた試験など、様々な条件での試験が可能である。データ解析ソフトウェアである Predictor ソフトウェアと組み合わせることにより、難溶性化合物の可溶化研究や晶析条件のさらなる迅速化が期待できる。

試験手順や機器について詳細のご説明を希望される場合は、フィジオマキナ株式会社担当者までお問い合わせください。