



アルテシニン共結晶の形成過程リアルタイムモニタリング

明治薬科大学 大和 真奈様、内田 遥翔様、島田 尚輝様、三浦 宗一郎様、
工藤 嵩之様、深水 啓朗先生

【Introduction】

近年の医薬品開発における重要な課題の1つに難水溶性を示す医薬品候補化合物の増加が挙げられる。難水溶性薬物は、経口吸収性が低く、期待される薬効が十分に発揮されない可能性がある。これに対するアプローチの1つとして、種々の物性改善が期待される共結晶化に着目した。共結晶とは原薬(API)と水溶性が高いコフォーマー(CCF)と呼ばれる添加剤とが水素結合等を介した結晶性複合体であり、種々の物性改善が期待できる。また、共結晶化を医薬品開発に用いる上で、その形成過程を理解しておくことは重要である。そこで、本研究では、難水溶性化合物である Artemisinin(ART)の新規共結晶探索およびラマン分光法を利用した共結晶の形成過程のリアルタイムモニタリングを行った。

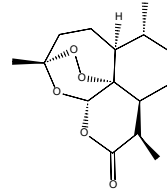
ラマン分光法

ラマン分光法とはラマン散乱光を用いる振動分光法である。物質へ光を照射した際に、入射光とは異なる波長を有するラマン散乱光と呼ばれる微弱な光が発生する。本手法では、このラマン散乱光を解析することで物質の情報を取得する。測定領域には、官能基の情報を反映する通常領域(CV)と格子振動および分子間相互作用の情報を反映する低波数領域(LF)がある。本研究では、LF ラマンを用いて共結晶の形成過程モニタリングを実施した。

【Materials】

原薬(API)

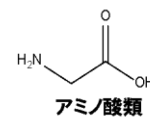
Artemisinin (ART)



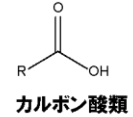
MW:282.34

コフォーマー(CCF)

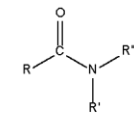
全 82 種の CCF を使用



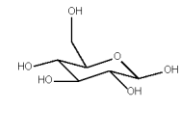
アミノ酸類



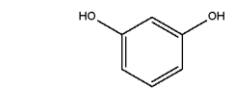
カルボン酸類



アミド類



糖類



フェノール骨格を持つ化合物

【Methods】

共結晶探索スクリーニング

Liquid assisted grinding (LAG)法

- 物理的混合物(PM)試料調製：API と CCF を化学量論比 1:1 で全量 100mg で秤量し、メノウ乳鉢にて粉碎した。
- LAG 法による試料調製：調製した PM のうち 50mg、粉碎ビーズ 2 個、EtOH10 μ m をサンプルチューブにいれ、粉碎機にて 3000rpm、9min で粉碎したものを試料とした。

調製した PM と LAG 法の粉碎試料を PXRD にて回析パターンを比較した。

Slurry 法

スクリーニングにて、PXRD の回析パターンに変化が認められた組み合わせにおいては Slurry 法での調整も試みた。バイアル内にて精製水を用いて調製した CCF 過飽和液 3.5mL に ART を 150mg 加えて懸濁させ、Crystalline を用いて 24h、800rpm の条件で攪拌した。攪拌中に LF ラマンを用いたモニ





タリングを実施した。加えて、懸濁液を吸引濾過・乾燥させた試料について PXRD による評価も行った。

粉末 X 線回析(PXRD)

回析角度： $2\theta = 5.0 \sim 35.0^\circ$

測定速度： $20.0^\circ / \text{min}$

管電圧：40kV

管電流：15mA



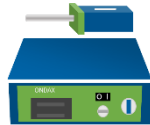
低波数領域(LF)ラマン分光法

励起レーザー波長：808nm

レーザー出力：300mW

露光時間：1s

積算回数：3回



示差走査熱量分析(DSC)

測定範囲： $25.0 \sim 170.0^\circ\text{C}$

昇温速度： $5^\circ\text{C}/\text{min}$

サンプル量： $5 \pm 1\text{mg}$ 、

クリンプパン

N_2 雰囲気



Crystalline

サンプル濃度： $150\text{mg}/3.5\text{mL}$

撮影間隔：60s

攪拌速度：800rpm

攪拌時間：24h

温度： 25°C (室温)

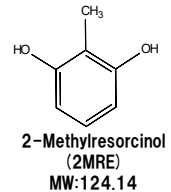


*Slurry 法による試料調製、共結晶の形成過程時の試料画像取得に用いた。

【Results & Discussion】

共結晶の探索スクリーニング

全 82 種の CCF による探索スクリーニングを行った結果、Resorcinol や orcinol などのレゾルシノール骨格を持つ複数の組み合わせにおいて ART との共結晶の形成が示唆された。



本研究では、2-Methylresorcinol(2MRE) との組み合わせにおいて、さらなる検討を行った。

PXRD の評価

LAG 法による調製試料において 10° 、 $13\text{-}15^\circ$ 、 24° 付近に ART、2MRE の単体とは異なる多数の新規回析ピークが認められた。Slurry 法により調製した試料においても LAG 法の試料と同様に回析パターンに変化が認められた。

LF ラマン・DSC による評価

LF ラマン

LAG 試料において、ART および 2MRE と比較した際に $25 \sim 60\text{cm}^{-1}$ 付近に散乱ピークの変化が認められた。

DSC

LAG 法では ART および 2MRE と異なる温度に吸熱ピークが認められた。以上の結果より、ART と 2MRE が新規複合体を形成したことが示唆された。

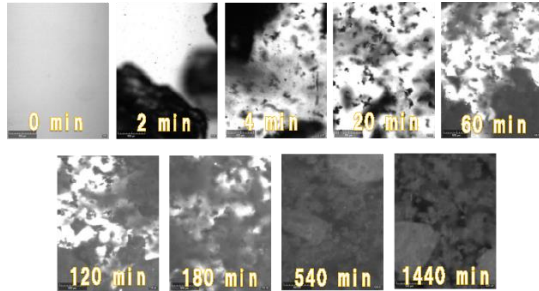
単結晶 X 線構造解析による評価

ART と 2MRE は化学量論比 2:1 の比率によって共結晶を形成していることが認められた。この共結晶は 2 分子の ART と 1 分子の 2MRE にて左右対称になる水素結合を形成していることが確認された。



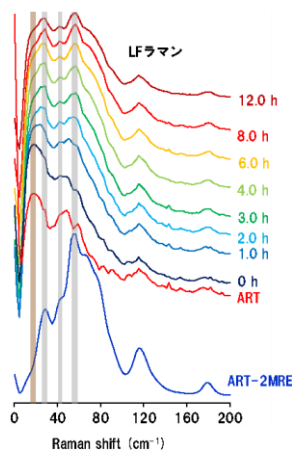


Crystalline を用いた共結晶の形成過程評価

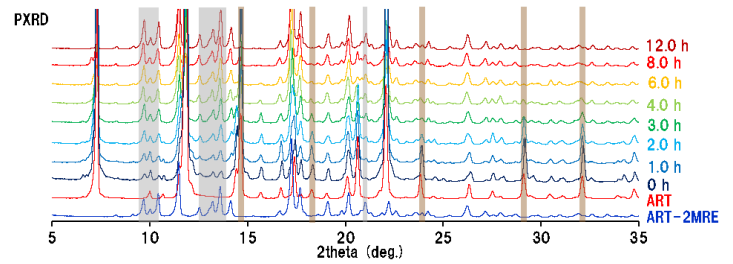


Crystalline を用いて、ART と 2MRE を用いた共結晶の形成過程の画像を取得した。画像から時間の経過とともに粒子自体の形質変化が認められた。

共結晶の形成過程を示す LF ラマンモニタリングの評価



LF ラマンを用いたリアルタイムモニタリングの結果、時間経過に伴い 20cm^{-1} 付近の ART 由来のピークが消失すると同時に 25cm^{-1} 、 40cm^{-1} 、 60cm^{-1} 付近の ART-2MRE 由来のピーク強度の増加が認められた。また、0~4h において大きなピーク変化が見られ、4h 以降は大きなピーク変化は認められなかった。これにより、共結晶は 4.0h 付近までに急激に形成され、その後は徐々に反応が進行していくことが示唆された。



LF ラマンで取得した経過時間ごとのスペクトル変化と PXRD の回析パターンには相関性が認められた。これにより、ラマン分光法を用いた共結晶の形成過程のモニタリングが可能であり、前処理をせずに測定が可能である点で有用性を示すことができた。

※本内容は第 67 回 日本薬学会 関東支部大会にて発表されたポスターに基づいて作成しております。

