

# 低波数領域プローブ型ラマン分光法による CBZ結晶転移のリアルタイム観察

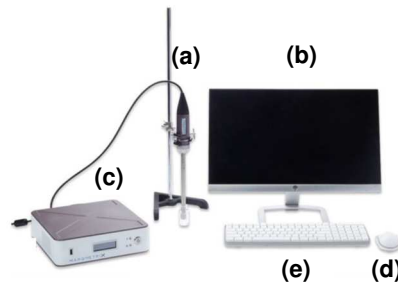
## Polymorphic Transitions in Carbamazepine by Low Frequency probe-type Raman spectroscopy

### 実験の目的

製薬業界では、複数の結晶構造を有する原薬があり、医薬品の知的財産権や結晶多形に依存する溶解度など異なる物理化学的特性に影響を与えていると言われている。さらに医薬品のバイオアベイラビリティに影響を与えることが知られ先発、後発、医薬品企業で最も重要なタスクの1つとなっており、(1)結晶形と不純物が重要品質特性(CQA: Critical Quality Attribute)として選択されることが多い。(2)工業晶析において、その目的は不純物の分離および製品結晶粒子の結晶構造や粒径分布の制御にあるが、晶析現象の詳細な解明は、FBRM, FT-IR, 近赤外, およびラマン分光法などのインライン分析技術が運用や検討がされているがいまだに明らかにされていない現象が多い。ラマン分光法は、他インライン分析技術と比較して結晶転移を定量的に運用できるという明確な利点があることが知られている。(3, 4)本稿では近年商用化されて低波数領域ラマンスペクトルの測定が可能となった低波数ラマンモジュール(5)をラマン分光器に搭載して、CBZIII形をモデル製剤として結晶転移のリアルタイム観察を実施し、低波数領域ラマン分光法の実用性と有用性を示す。

### 実験に用いた装置 (1) ラマン分光計

Fig.1 にAll-In-One® (以降、本装置)の概要、Table 1 に装置の主要な仕様を示す。本装置は、プローブ部(a)、モニター部(b)、レーザーや光学部品を含んだベースユニット部(c)そしてキーボード(e)、マウス(d)で構成されている。コンピュータを内蔵したベースユニットは幅、奥行きともに25 cm以内と非常にコンパクトで、測定場所への移動も簡単である。搭載しているレーザーは励起波長785 nm、出力は5~450 mWの間で可変である。内蔵しているコンピュータには128 GBの記憶容量やUSB、インターネット接続用コネクタなども搭載されている。本装置には直径1/2インチのプローブが標準装備されており、反応容器や測定対象物の大きさ、目的に応じて1/4インチ、1/8インチなどの異なる外径のプローブやフロー型プローブなどもオプションとして用意されている。



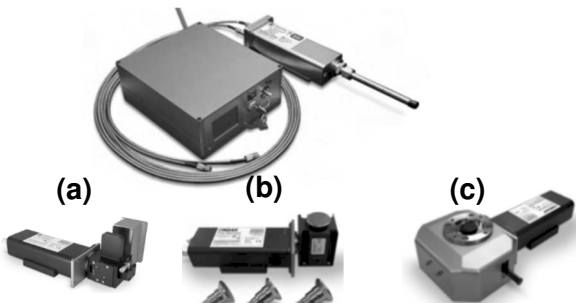
© 2019 MarqMetrix. All Rights Reserved.

Marqmetrix All in One®

励起レーザー波長	785 nm
レーザー出力	5~450 mW (可変)
測定可能波数範囲	100~3200 cm <sup>-1</sup>
スペクトル分解能	6 cm <sup>-1</sup> (測定領域平均値)
サイズ (分光器)	高さ: 7.7 cm
コンピュータ内臓	幅: 25 cm 奥行: 25 cm 100-240 VAC
消費電力	50/60 Hz, 1.5 A
レーザー出力規格	Class 3B laser device Reprinted to the FDA
検出器	2-Stage TE Cooled CCD

Fig. 1

Table 1



© 2019 COHERENT COMPANY. All Rights Reserved.

THz-Raman® TR-Probe

Fig. 2

### 実験に用いた装置 (2) 低波数領域ラマンモジュール

Fig.2 にTHz-Raman® TR-Probeおよびその付属品の外観を示す。バイアル瓶に充填した試料測定を可能にするモジュール(Fig.2 a)、試料の透過測定を可能にする透過モジュール(Fig.2 b)そして顕微鏡に搭載可能な顕微鏡モジュール(Fig.2 c)などTR-Probeにはマクロ分析からマイクロ分析まで広範囲の応用をカバーするアクセサリを搭載することが可能である。

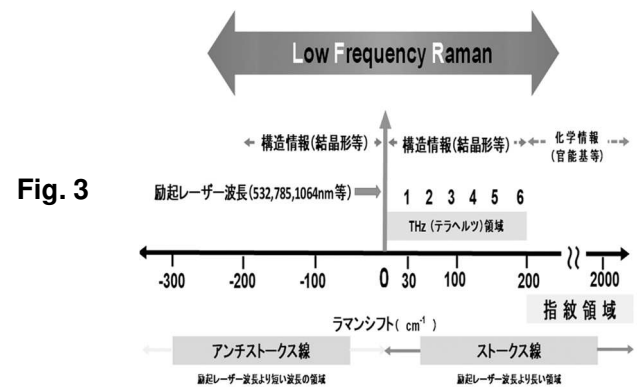


Fig. 3

### 低波数ラマン分光法の測定領域

Fig. 3 に低波数ラマン分光法で測定可能なスペクトル領域と情報の種類を示す。物質の分子構造-官能基、幾何異性、コンフォメーション、水素結合、化学構造の状態などは指紋領域と呼ばれている200~1800cm<sup>-1</sup>にピークが現れ、(6) 200cm<sup>-1</sup>以下の領域は低波数領域と呼ばれ、化合物の結晶形など構造情報を表すピークが現れ、低波数領域では指紋領域のラマン散乱光強度より強くなることが知られている。(7)

### 実験に用いた試料

測定に市販されている試薬カルバマゼピン(Carbamazepin 東京化成工業株式会社 LOT#: C8EOE - HS)を用いた。本試薬はCBZIIIであり、PXRDの結果よりIII形結晶であることを確認している。

### 実験に用いた装置 (3)

Fig.4 に実験に用いた加熱ステージとラマンプローブそして試料の設置状態を示す。加熱ヒーターは直径、深さ共に約5mmのアルミ製試料カップの底にあり、試料はアルミカップに充填している。ラマンプローブを試料表面から約3mm程度離れた非接触状態で設置し、プローブ先端のファイバレンズから試料へ励起レーザーが照射されている。待機時間と測定時間を含めた測定間隔は1分である。約40分の間で常温~170℃へ加熱しながら試料の測定を実施した。

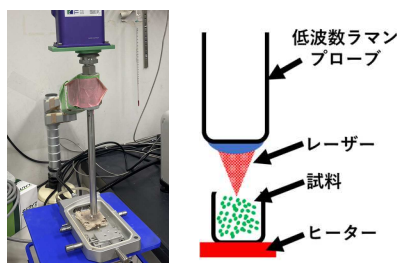


Fig. 4

## 結果と考察

Fig. 5 にCBZの各結晶のラマンスペクトルを示す。約 $-100 \sim 200 \text{cm}^{-1}$ までを物質の結晶情報が強く表れる低波数領域（黒点線囲み）と $(8) 200 \sim 1800 \text{cm}^{-1}$ を物質の官能基情報が強く表れる指紋領域（朱実線囲み）を同時に測定することが本装置では可能である。I形結晶の $1500 \sim 1800 \text{cm}^{-1}$ 領域には $1563, 1598$ そして $1621 \text{cm}^{-1}$ に強度の強い特異的なピークを確認し、III形結晶には $1565, 1600$ そして $1624 \text{cm}^{-1}$ に認めた。 $(9)$  さらに非晶質には $1565, 1600$ そして $1622 \text{cm}^{-1}$ と各結晶形に特異的なピークを認めたが、各結晶形の特異的なピーク位置はスペクトル分解能以下の微弱な違いであった。一方、低波数領域の各結晶形のピークは、I形では $24, 58$ そして $107 \text{cm}^{-1}$ に、III形では $35, 103 \text{cm}^{-1}$ そして $118 \text{cm}^{-1}$ と大きな違いを確認し、さらに非晶質の場合にはハローのような形状のピークであった。 $(8)$  以上のように、低波数領域は指紋領域と比較してラマン散乱は強く表れる特徴を有し、物質の結晶情報は指紋領域よりも特異的に表れることを確認することができた。

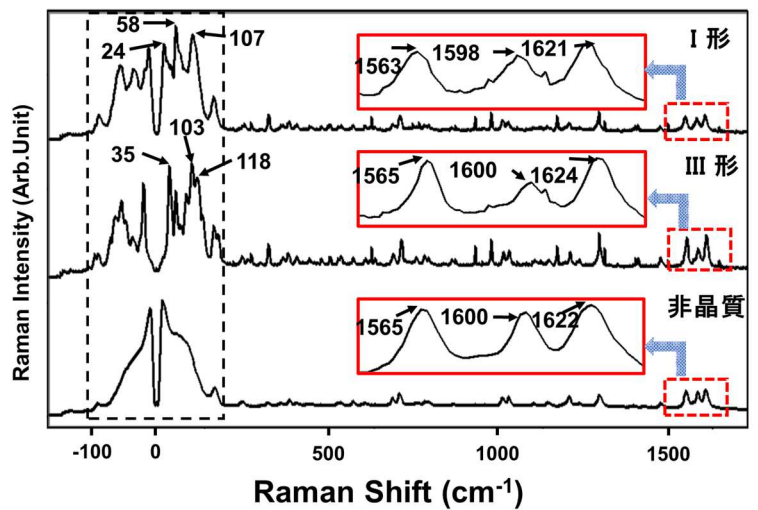


Fig. 5

CBZIIIからCBZIへの結晶転移の経時変化を主成分解析で理解することができる。主成分解析で得られた主成分（Principle Component）はスペクトルとして表され、標準スペクトルとピーク位置、強度などを標準スペクトルと比較することで主成分を推定することができる。（Fig. 6）I形結晶のスペクトルに $-24$ と $24 \text{cm}^{-1}$ にピークを確認し、PC 1にも同等程度の強度と位置にピークを確認することができた。同様にIII形結晶スペクトルに $-35$ と $58 \text{cm}^{-1}$ にピークを認め、PC 3にも同等程度の強度と位置にピークを確認することができた。つまり、PC1はI形、PC3はIII形であることが推定することができる。 $(10)$

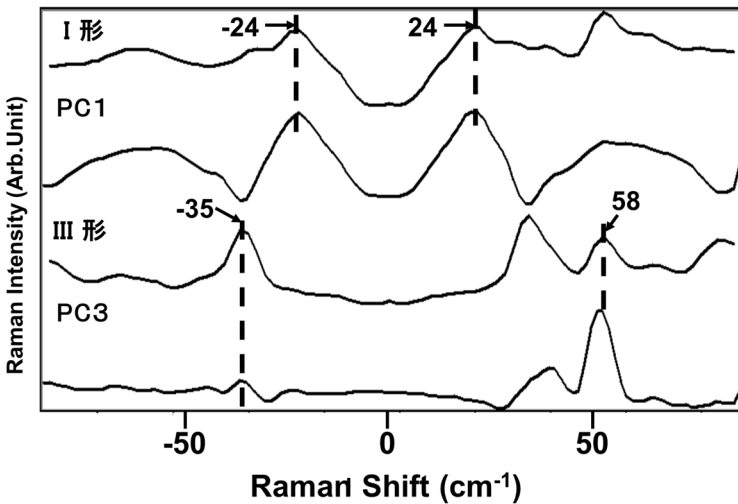


Fig. 6

### 【参考文献】

- (1) Láng, P., Kiss, V., Ambrus, R., Farkas, G., Szabó-Révész, P., Aigner, Z., & Várkonyi, E. (2013). Polymorph screening of an active material. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 84, 177-183.
- (2) 今井昭生. (2019). 合成原薬の医薬品ライフサイクルマネジメントの実際—アルツハイマー型認知症治療薬アリセプト原薬（ドネペジル塩酸塩）の事例—. *日本PDA学術誌GMPとバリデーション*, 21(1), 1-21.
- (3) 小針昌則 Masanori 日揮技術ジャーナル Vol.3 No.4 (2014) 晶析プロセスの新たな解釈と溶媒媒介転移
- (4) Starbuck, C., Spartalis, A., Wai, L., Wang, J., Fernandez, P., Lindemann, C. M., ... & Ge, Z. (2002). Process optimization of a complex pharmaceutical polymorphic system via in situ Raman spectroscopy. *Crystal Growth & Design*, 2(6), 515-522.
- (5) Inoue, M., Hisada, H., Takatori, K., Koide, T., Fukami, T., Roy, A., & Carriere, J. (2020). Solid-state analysis of alpha-cyclodextrin inclusion complexes using low-frequency Raman spectroscopy. *Analytical Chemistry*, 93(2), 704-708.
- (6) Hédoux, Alain, et al. Polymorphic transformation of anhydrous caffeine upon grinding and hydrostatic pressurizing analyzed by low-frequency raman spectroscopy, *Journal of pharmaceutical sciences*, 102, 1, 162-170 (2013).
- (7) Hisada, Hiroshi, et al. Determining the Distribution of Active Pharmaceutical Ingredients in Combination Tablets Using Near IR and Low-Frequency Raman Spectroscopy Imaging, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 68, 2, 155-160 (2020).
- (8) Remoto, P. I. J., Bérziš, K., Fraser-Miller, S. J., Korter, T. M., Rades, T., Rantanen, J., & Gordon, K. C. (2023). Exploring the Solid-State Landscape of Carbamazepine during Dehydration: A Low Frequency Raman Spectroscopy Perspective. *Pharmaceutics*, 15(5), 1526.
- (9) O'Brien, L. E., Timmins, P., Williams, A. C., & York, P. (2004). Use of in situ FT-Raman spectroscopy to study the kinetics of the transformation of carbamazepine polymorphs. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 36(2), 335-340.
- (10) Hisada, H., Okayama, A., Hoshino, T., Carriere, J., Koide, T., Yamamoto, Y., & Fukami, T. (2020). Determining the distribution of active pharmaceutical ingredients in combination tablets using near IR and low-frequency Raman spectroscopy imaging. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 68(2), 155-160.

謝辞 本研究は明治薬科大学 分子製剤学研究室の院生や学部生の方々にご協力をいただきました。ここに深謝いたします。

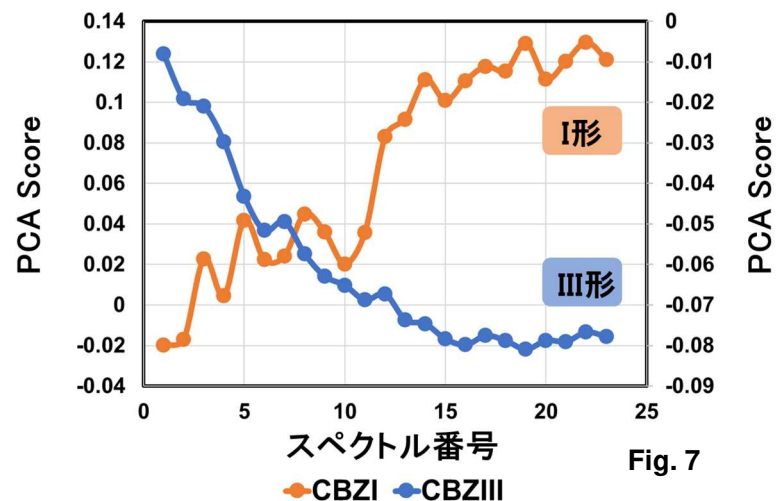


Fig. 7

PC1 (I形) とPC 3 (III形) のPCA Scoreの変化を経時的にプロットした結果をFig. 7 に示す。PCAのScoreの経時的な変化のプロファイルからそれぞれの結晶形の時間的な変化を理解することができる。III形結晶は加熱開始から約8分で50%がI形結晶へ転移したことがわかった。

### まとめ

ラマン分光法により、CBZIとIII形そして非晶質を識別することが可能であることが分かったが、指紋領域のそれぞれのピーク位置の違いは微弱であった。一方、低波数領域のそれぞれの結晶形のスペクトルの形状は大きくことなり、結晶形に特異的であることがわかった。低波数領域のラマンスペクトルを使って主成分解析をおこなった結果、結晶転移の定量的な分析と評価が可能となった。低波数領域では指紋領域よりも強い散乱光をえることが可能となり、定性・定量限界の改善が期待できる。

### 【日本国内販売代理店】

デモ、価格などの詳細お問い合わせは  
株式会社テックアナリシス  
〒572-0020 大阪府寝屋川市田井西町18-10  
電話/FAX 072-380-6245

メールアドレス : hisada@tekanalysis.jp  
ホームページ : http://tekanalysis.jp/  
携帯電話番号 : 090 4037 2065