

微小重力下における医薬品原薬結晶の非溶媒晶析

日大生産工(院) ○藤井 大喜 日大生産工 亀井真之介, 下村 修一, 高橋 岩仁
 有人宇宙システム(株) 佐藤 巨光 (株)コンフォーカルサイエンス 田仲 広明
 日大生産工(研究員) 大塚 誠 日大生産工 松本 真和

1. 緒言

製薬分野では、医薬品の有効性と安全性が重要視される。医薬品の薬効と安全性を保障する概念として、医薬品の溶解性、安定性、およびバイオアベイラビリティなどの製剤特性には原薬の結晶品質（結晶構造（多形）、粒径など）が影響することから、晶析操作は新薬の製造や既存品の改良を行う上で重要であり、様々な工夫のなされた新規な結晶析出法と多様な溶媒の組み合わせに関する研究が活発に行われている^{1, 2)}。地上重力下での晶析操作では、結晶の核発生過程において母液の溶液濃度に依存する密度差対流、結晶の成長過程において溶液密度差対流や粒子沈降現象による二次元核発生が生じており、重力の存在が結晶核化および結晶成長の再現性に影響を及ぼしている³⁾。そのため、地球上での重力を排除した実験系として、落下塔や飛行機の放物線飛行による自由落下実験が行われている^{4, 5)}が、微小重力環境の再現時間の短さなどが課題として挙げられる。一方、近年注目を集めている国際宇宙ステーション(ISS)における実験では、打ち上げから地球への帰還まで30日程度の微小重力実験が可能である。本研究では、晶析対象物質として抗炎症薬や解熱鎮痛剤であり、複数の多形を有するインドメタシン(IMC)、IMCの結晶化制御のためのモデル不純物としてアセメタシン(ACM)を選択し、JAMSSによりISSで行われている「Kiraraシェアサービス」を利用した微小重力下でのIMCの非溶媒晶析実験を行い、重力環境が多形現象および不純物の添加効果に及ぼす影響について検討した。本稿では採取したIMCの偏光顕微鏡を用いた観察とラマン顕微鏡による測定結果について述べる。

2. 実験装置および方法

2.1 IMC-ACM-EtOH溶液の調製

298 Kで0.35 gのIMCを良溶媒であるエタノール(EtOH) 15mlに加え、スターラーを用いて500 rpmで30分間の攪拌を行った。その後、ACMに対するIMC質量比 ϕ_{ACMMC} が0.3または1.0 wt%になるようにACMを溶液に加え、再び500 rpmで30分攪拌することで、IMC-ACM-EtOH溶液を調製した。また、比較としてACMを加えないIMC-EtOH溶液(ϕ_{ACMMC} : 0wt%)も調製した。

2.2 CD法実験装置

高品質タンパク質結晶生成実験³⁾をはじめとした微小重力下で晶析する際に採択されている結晶化法であるカウンターディフュージョン法(CD法)の実験装置の概略をFig. 1に示す。

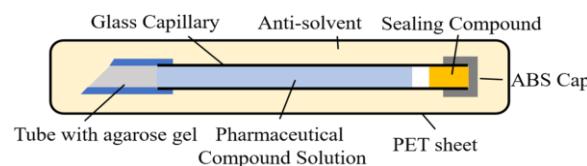


Fig. 1 Experimental apparatus of CD method

IMC-ACM-EtOHまたはIMC-EtOH溶液をガラス製のキャピラリー内に充填し、キャピラリーの片端にシーリングコンパウンド、反対の片端にアガロースゲルを充填したゲルチューブを装着する。このキャピラリーと非溶媒である蒸留水(H₂O)をポリエチレンテレフタラート製の袋に装填し、恒温槽に入れる。これによりH₂Oはアガロースゲルを介してキャピラリー内に拡散し、反対にキャピラリー内のEtOHもアガロースゲルを介してキャピラリー外へ拡散する。このような双方向拡散の結果、キャピラリー内のEtOH濃度が低下し、キャピラリー内にIMCが析出する。

Antisolvent Crystallization of Pharmaceutical Active Ingredients under Microgravity

Taiki FUJII, Shinnosuke KAMEI, Syuichi SHIMOMURA, Iwahito TAKAHASHI,
 Naohiro SATO, Hiroaki TANAKA, Makoto OTSUKA
 and Masakazu MATSUMOTO

2.3 微小重力下における晶析実験

Kirara シェアサービスを利用して、 $\varphi_{ACM/IMC}$ が 0.3 または 1.0 wt% の IMC-ACM-EtOH 溶液および IMC-EtOH 溶液 ($\varphi_{ACM/IMC}$: 0 wt%) を仕込んだ複数の CD 法の実験装置を Space-X 社製 Falcon 9 ロケット (CRS-29) に搭載し打上げ、ISS での 40 日間滞在を経て地球への帰還、試料の回収を行った。また、比較として、地上重力下においても CD 法を用いて晶析実験を行った。

2.4 キャピラリー内の析出結晶の測定

CD 法の実験装置において、ガラス製のキャピラリー内に析出した結晶は微量かつ取り出しが困難であるため、偏光顕微鏡を用いてキャピラリー越しに析出結晶を観察した。また、非破壊・非接触で試料測定が可能なラマン顕微鏡による測定を試みた。

3. 実験結果および考察

3.1 微小重力下または地上重力下で析出した結晶の偏光顕微鏡観察の比較

微小重力下、 $\varphi_{ACM/IMC}$ が 0 または 1.0 wt% においてキャピラリー内に析出した結晶の偏光顕微鏡写真を Fig. 2 に示す。比較として、地上重力下での写真も示す。

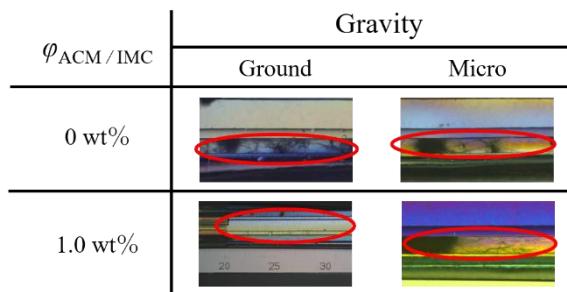


Fig. 2 Photographs of polarized light microscopy of obtained crystals in microcapillary

いずれの重力環境および $\varphi_{ACM/IMC}$ においても、キャピラリー内での結晶析出が確認できる。

3.2 微小重力下または地上重力下で析出した結晶のラマンスペクトルの比較

微小重力下または地上重力下、 $\varphi_{ACM/IMC}$ が 0 または 1.0 wt% の条件下でキャピラリー内に析出した結晶のラマンスペクトルの比較を Fig. 3 に示す。CD 法ではゲルチューブ側から良溶媒である EtOH の濃度が徐々に低下するため、キャピラリー内の結晶の析出箇所も重要なパラメーターとなることから、キャピラリーの観察位置 (ゲルチューブ近傍、中間部、シーリングコンパウンド近傍) を変化させた場合の結果も同時に示す。重力

環境によらず、1615, 1648, 1688 cm⁻¹ に熱力学的に準安定な多形である α 型の IMC に起因するピークが、1213, 1680 cm⁻¹ に安定な多形である γ 型の IMC に起因するピークが確認された。また、本実験条件下では、 $\varphi_{ACM/IMC}$ および観察位置の変化が析出する多形に及ぼす影響は少少であることが確認された。

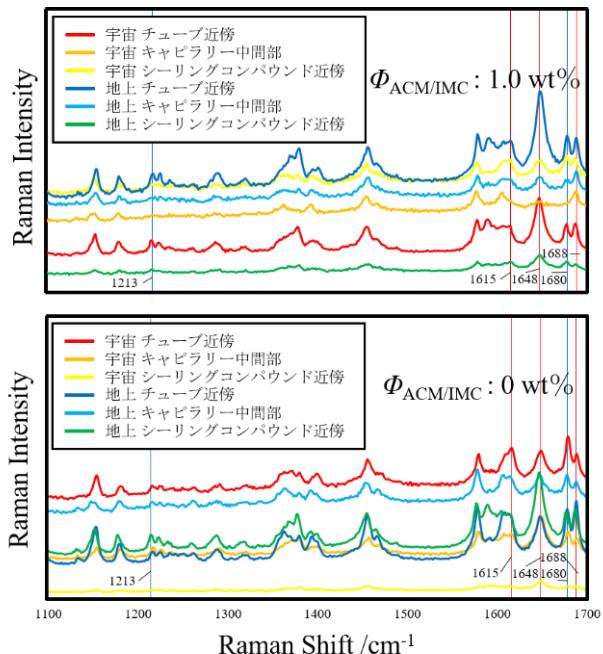


Fig. 3 Raman spectra of obtained crystals at $\varphi_{ACM/IMC}$ of 0 or 1.0 wt% in microcapillary

謝辞

本研究は、令和 6 年度大学院生産工学研究科横断型プログラム (ファインバブルを用いたグリーンイノベーションプロセスの構築) の支援を受けて実施されました。ここに記して感謝の意を表します。

参考文献

- 1) 白川ら, ホソカワ粉体工学振興財団年報, **25**, 168 (2017)
- 2) 山邊ら, 高圧力の科学と技術, **12**, 331 (2002)
- 3) JAXA, <https://humans-in-space.jaxa.jp/protein/researchers/project/microgravity.html#ctop> (参照 2024.10.07)
- 4) 間宮ら, 日本マイクログラビティ応用学会誌, **26**, 88 (2009)
- 5) 牧原ら, 応用物理, **64**, 39 (1995)