

製薬用粉末 X 線回折装置

スペクトリス株式会社 PANalytical 事業部
アプリケーションラボラトリー
山路 功

1. はじめに

粉末 X 線回折法は創薬、製剤、品質管理に至る製薬の全研究分野において古くから用いられている分析手法の一つである。

ただし、その用途は多岐に渡る¹⁾²⁾。例えば、開発初期段階では多量試料のスクリーニングや微量試料測定、結晶化度測定。更には僅かな結晶系の違いの判定や、粉末 X 線回折パターンから結晶構造を決定する為の高分解能測定がある。製剤の分野では、製剤中の微量原薬の測定、湿度を変化させた加速試験、打錠時の圧力による結晶多形測定がある。また、品質管理の分野では、打錠後の原薬濃度管理や安定性試験など、種々の測定が行われている。X 線回折法をこれらの分野で用いる場合、それぞれの測定目的に最適なハードウェアの選択を行う必要があり、更には測定方法に工夫が必要である。

一方、最近の実験室系粉末 X 線回折装置は、高速測定や微量測定等が可能となる半導体アレイ検出器や X 線集光ミラーなど、新たな素子も開発されたことにより、従来は困難であった測定も実験室レベルで測定が可能になってきた。

今回は、最新の粉末 X 線回折装置を用いて、1 次モノクロメータを用いた高分解能粉末 X 線測定及び、スクリーニング用高速測定や錠剤の透過測定について光学系の説明や応用例について説明する。

2. 半導体アレイ検出器³⁾

実験室系粉末 X 線回折装置において、測定時間の短縮化や高分解能測定に大きく寄与した一つとして、半導体アレイ検出器が挙げられる。一般的な集中法(ブラッグ・ブレンターノ法)の場合、X 線管のターゲット、多結晶試料、受光スリットをローランド円上に配置する光学的条件をとり、試料は水平配置のまま 1 次側(X 線源)及び 2 次側が同時に稼動し走査を行う(θ - θ スキャン)。このとき回折ビームは受光スリット位置でフォーカスを結び、強度が大きく良好な分解能を持つデータを得ることが出来る。また、入射 X 線が角度に拡がりを持っており、配向が異なるより多くの結晶子が回折に寄与している事も集中法の特徴でもある。ここで図-1 に 2 次側(受光側)に半導体アレイ検出器を搭載した場合の光学系模式図を示す。

半導体アレイ検出器は、走査方向に対して 100 チャンネル以上で分割された検出器であり、従来の集中法での受光スリット位置に配置する。半導体アレイ検出器を配置した光学系は図-1 のように従来のブラッグ・ブレンターノ法集中条件を満たしており、 θ - θ スキャンによってデータを収集する。分割した検出素子は単独のデータ同時取り込みを可能にし、スキャンの過程で全検出子が通過した 2θ 角度に対しチャンネル数積算した強度データを得る。即ち、図-1 の上図は、試料からの特定回折線について半導体アレイ検出器の最上部にある検出素子で検出を開始し、その後、半導体アレイ検出器が連続的に動き、図-1 下図のとおり最下部へ移動するまでの間、順次、検出素子が回折線を検出する。つまり、同じ回折線に対して 100 回以上積算を行っている事になる。勿論、異なる結晶面からの回折線に関しても、異なる検出素子が順次、連続的に積算し検出を行う。

この方式は RTMS(RealTimeMultipleStrip)テクノロジーと呼ばれるものである。このテクノロジーによってスキャンが行われている間、半導体アレイ検出器は各反射について、より長い時間回折線を追いかけて測定し、最終的に全チャンネルで得られた強度を積算し、表示することが出来る為、粉末試料などの配向の小さな試料についても、従来比約 100 倍の積算強度データ取り込みを可能にしている。

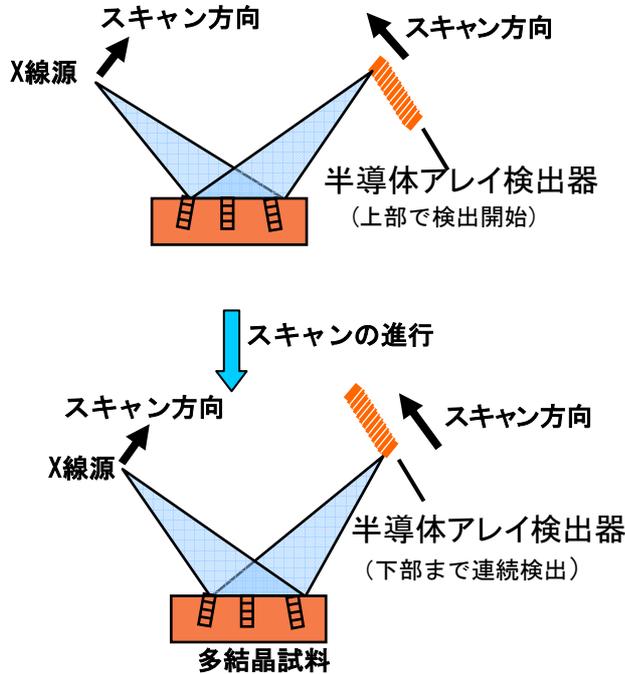


図-1 半導体アレイ検出器の動作(集中光学系)

3. 高分解能粉末 X 線回折測定⁴⁾

結晶多形の判定や粉末パターンから結晶構造の決定を行う測定では、ピークの重複によりこれらの解析が困難な場合がある。そこで、1 次側にモノクロメータを備え、 $K\alpha_1$ 線のみの X 線を試料に照射する粉末 X 線回折法により、高角度分解能測定を行うなどの工夫が必要である。但し、光学系が長くなる、あるいはモノクロメータによる X 線吸収で X 線強度の減少が生じるなど、実験室レベルの粉末 X 線回折装置では長時間測定を余儀なくされていた。

この問題を解決するため、1 次側光学系にモノクロメータを用いた高分解能粉末 X 線回折装置に半導体アレイ検出器(X'Celerator)を組み合わせた。これにより、従来は困難をきわめていた高速・高分解能粉末 X 線回折測定が可能になった。

3-1 高分解能集中光学系粉末 X 線回折装置

この装置は、図-2 に示すとおり、1 次側光学系にヨハンソン型 Ge(111)モノクロメータを配した集中光学系であり、このモノクロメータにより X 線は単色化され、 $K\alpha_1$ 線のみを取り出し測定に用いる。X 線管球から出射された X 線は、湾曲モノクロメータを介し等距離で集光する配置になっている。

X 線強度は、X 線光路が通常の $\alpha_{1,2}$ を用いた装置に比べ約 2 倍長くなる事により、モノクロメータでの吸収を除いて、約 1/4 となるが、検出器に従来のシンチレーション検出器や比例計数管と比較して約 100 倍の計数が可能な半導体アレイ検出器を用いる事により短時間での測定が可能となる。

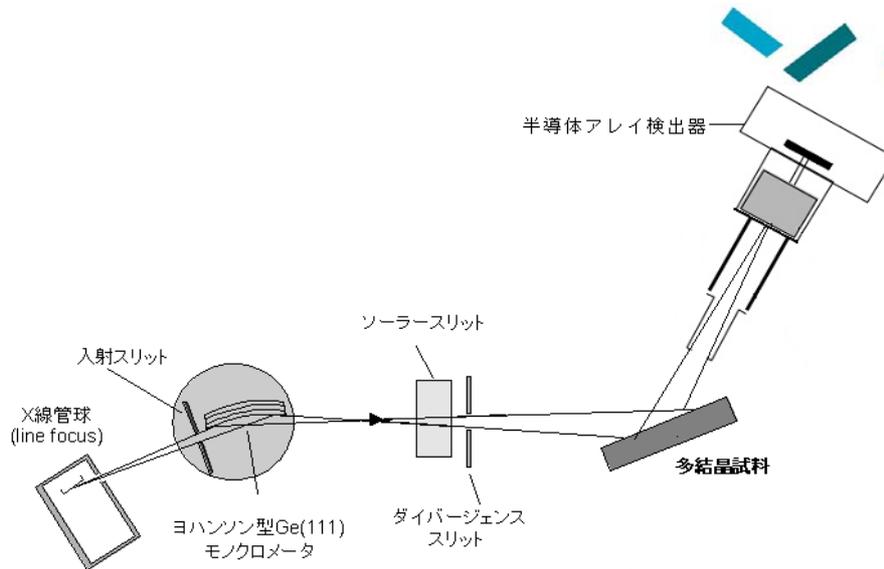


図-2 高速高分解能粉末X線回折装置の光学系

3-2 応用例 低濃度試料の高分解能測定

1次モノクロ付き高分解能集中法を用い製剤試料中の原薬の定量分析を行った。医薬品は製剤の過程で、乳糖を始め複数の添加剤と混合されている。また、医薬品の種類によっては、原薬の濃度が1%に満たない低濃度の場合があり、更に、添加物と原薬の回折X線が近接し、X線回折法による定量分析が困難な場合がしばしば見受けられる。

図-3に、医薬品を高分解能粉末X線回折装置(PANalytical社製 X'Pert PRO Alpha-1 半導体アレイ検出器X'Celerator付)と通常の粉末X線回折装置(PANalytical社製 X'Pert PRO MPD X'Celerator付)にて測定を行ったプロファイルを重ね合わせて示した。測定試料の原薬濃度は0.5wt%で、 $8.05^{\circ}2\theta$ の回折線が原薬のメインピークであり、その他の回折線は添加剤と重なってしまい、分離は困難であった。添加剤の回折線位置は $8.20^{\circ}2\theta$ であり、0.5wt%の原薬の回折線との差は僅か 0.15° であった。通常の粉末X線回折装置による測定では、これらの回折線は充分に分離できず、原薬濃度の定量は困難であった。しかしながら高分解能粉末X線回折装置では、これらの回折線は分離し、定量分析を可能にした。図-4に、原薬の濃度が5wt%~0.25wt%の異なる試料を高分解能粉末X線回折装置にて測定した結果を示す。

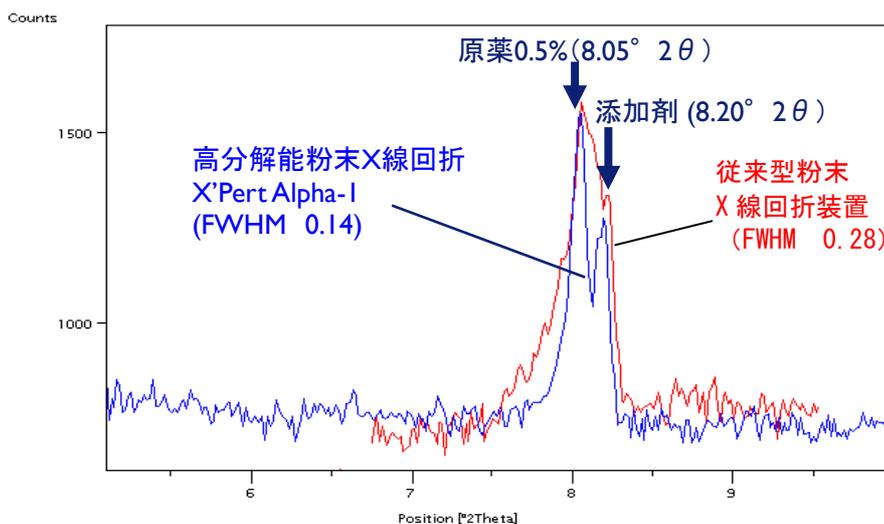


図-3 低濃度原薬試料の高分解能装置と従来型装置によるX線回折パターン

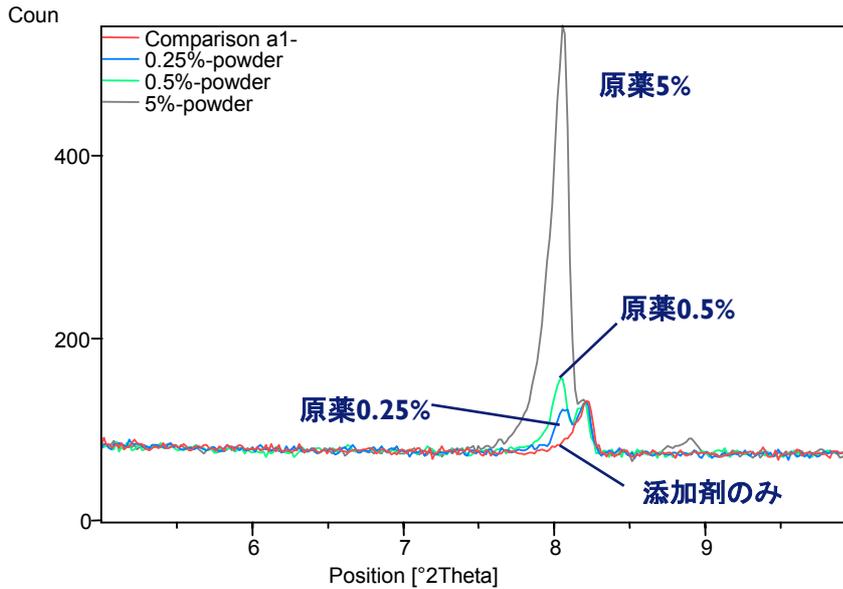


図-4 異なる原薬濃度のX線回折パターン

3-3 平行法による高分解能粉末X線回折測定

前項(3-1)の集中光学系による高分解能測定では、結晶の形状から生じる選択配向の影響を受け正確な回折X線強度が求まらない場合がある。選択配向の影響を少なくする為には、平行光学系を用いた透過法がよく用いられる。これは、試料をキャピラリーに充填した状態で回転させ、平行ビームを用い試料にX線を透過させる方法である。1次側にミラーやチャンネルカットの結晶を配置する事で、高分解能粉末X線回折の測定が行える。この手法では、直径0.3~0.5mm程度の細いキャピラリーを使う為に絶対量が少ない試料の測定ができるとともに、ガラスキャピラリーを密封することにより、大気中の酸素や湿度との反応を防ぐことも可能である。

3-4 高分解能平行光学系粉末 X 線回折装置

高分解能平行光学系粉末X線回折装置の光学系を図-5に示す。1次側光学系は、多層膜ミラーにより平行性を高め、更にGe(220)チャンネルカットにより2回回折させ、CuKα1のみを取り出し発散角を24秒に抑えることができる。試料は、キャピラリーに充填し、ゴニオメータの回転中心に設置する。測定手法は、透過法(デバイシェラー光学系)となる。検出器は半導体アレイ検出器を用いる。

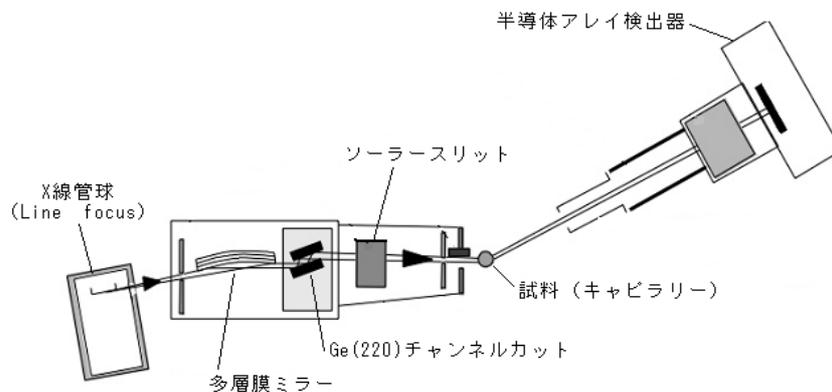


図-5 高分解能平行光学系X線回折装置の光学系

3-5 シンクロトロンとの比較

高分解能平行光学系粉末X線回折装置とシンクロトロン(英国Daresbury Laboratory)での測定結果の比較を行った。検出器やX線波長、検出器等の測定条件は、異なるものの、光学系は同じ透過法(Debye-Scherrer)にて測定を行った。

測定試料は、Tetracycline Hydrochloride($C_{22}H_{25}ClN_2O_8$)で、これを0.5mm径のキャピラリーに充填し測定を行った。

測定時間は、シンクロトロンでは5時間、実験室系装置に半導体アレイ検出器(X'Cellerator)を用いた高分解能平行光学系粉末X線回折装置では、36時間とした。測定条件を表-1に示す。

表-1 測定条件

Specification	X'Pert-Pro Hybrid monochromator	Synchrotron (Daresbury)
Geometry	Debye-Scherrer	Debye-Scherrer
Detector	X'Cellerator	Carved image plate
Wavelength (nm)	0.15406 (Cu $K\alpha_1$)	0.0692
Angular range(2θ)	3-75	2.115-40
Step size ($^\circ$)	0.017	0.005
Time/Step (s)	30.0	2.4
Total data collection time(h)	36.0	5.0

X線回折測定結果の比較を図-6に示す。尚、使用しているX線波長が異なるため、横軸を結晶面間隔(\AA)とし、比較を行った。図-6中の上図がシンクロトロンによる測定結果で、下図が半導体アレイ検出器付高分解能平行光学系粉末X線回折装置による測定ピークプロファイルである。測定時間はシンクロトロンと比較し、約7倍かかっているものの、実験室装置でシンクロトロンとほぼ同等な測定結果が得られた。

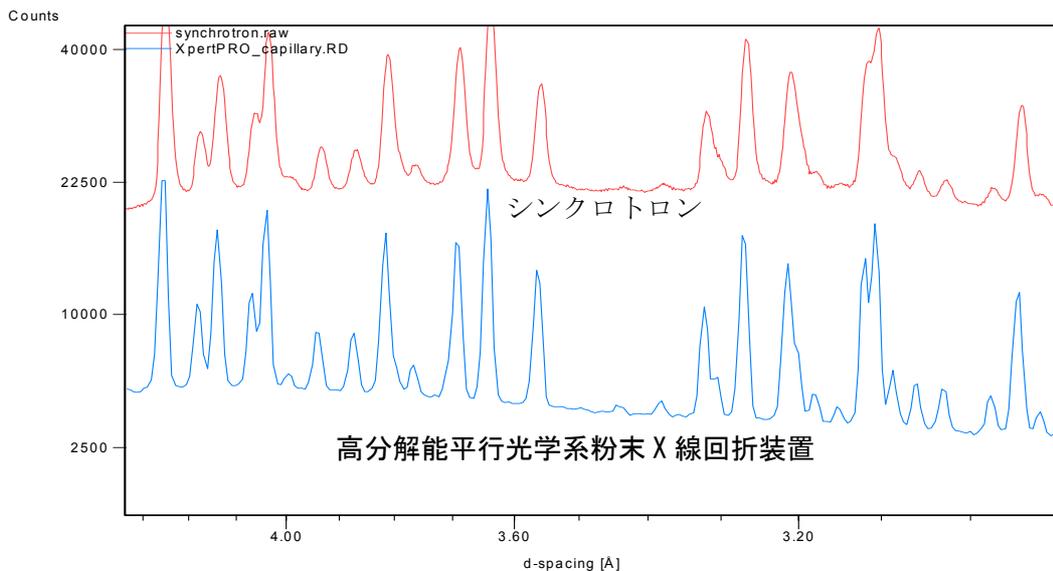


図-6 高分解能平行光学系によるX線回折パターンとシンクロトロンでの測定データ比較

3-6 平行法における高速半導体アレイ検出器の動作

平行光学系では、回折X線は集光しない為、受光側に平板コリメータや受光スリット等を用いて角度分解能を上げる事が必要である。しかしながら、半導体アレイ検出器には、平板コリメータや受光スリットはその構造上使われていない。この場合、角度分解能はX線照射幅の影響を受けるので、X線照射幅を抑った細いキャピラリーに試料を充填したデバイシェラー透過法となる。

図-7 左は、太いキャピラリーを使用した場合の模式図で、異なる位置に存在する同じ結晶面間隔からの回折X線が、高速半導体アレイ検出器の異なる部分で検出する。これによって、角度分解能が悪くなる。一方、図-7 右は、キャピラリー径を細くした場合の模式図で、回折X線の広がりも抑えられている。高分解能測定には、0.3~0.5mmのキャピラリーを用いる事により、高分解能集中法粉末X線回折装置と同等の半値幅が得られる。

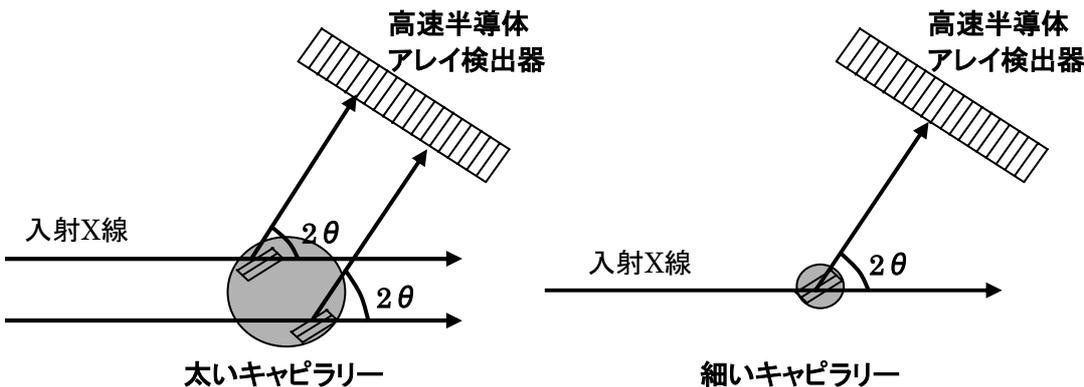


図-7 高速半導体検出器を用いた平行光学系の概念図

4. フォーカシング集光ミラーを用いた透過測定⁵⁾

キャピラリーを用いた平行光学系では、キャピラリー径と角度分解能が相反する関係にあることは既に記した。試料のハンドリングを考慮した場合、細いキャピラリーは粒径や静電気の影響を受ける為に試料の充填が困難な場合が多々見受けられる。近年では、打錠後の錠剤中の原薬の定量分析を透過法で測定を行う検討もされているが、仮に錠剤の厚みが3mmの場合は、3mmφのキャピラリーを用いた測定と同じ状態になり、十分な角度分解能が得られず、近接するピークの分離が不可能になる。

そこで、フォーカシング集光ミラーと高速半導体検出器を用いた光学系で透過法による測定を行った。フォーカシング集光ミラーは検出器部分でX線を集光する為に、キャピラリー径の影響をあまり受けず、1mmφ前後の太いキャピラリーが利用でき、打錠後の錠剤を直接分析することが可能である。更には、ウエルプレートを用いて合成した原薬のスクリーニングにも利用可能である。

4-1 フォーカシング集光ミラーを用いた透過測定

図-8 にフォーカシング集光ミラーを用いた透過法の図を示す。X線管球で発生したX線をフォーカシング集光ミラーで集光させつつ、キャピラリーや錠剤試料を透過させ、X線ビームは高速検出器の位置で集光する。尚、測定中は、配向の影響や試料の偏析を軽減する為に試料は回転させることが望ましい。

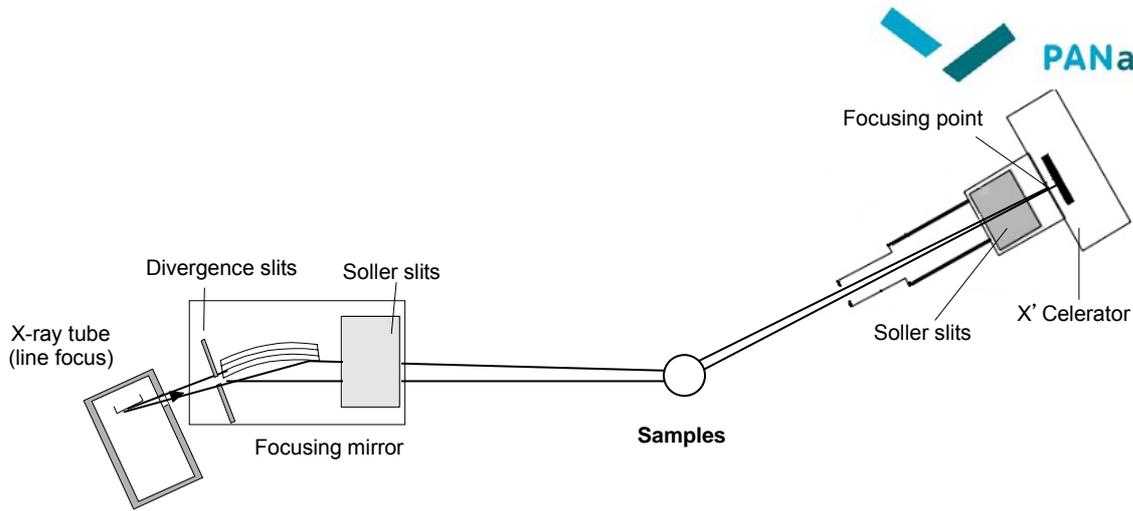


図-8 フォーカシング集光ミラーによる透過法

分解能を評価する為に、従来型の平行法とフォーカシング集光ミラーの半値幅 (FWHM) とキャピラリー径の比較を行い図-9 に結果を示した。ここから分かるように、従来型の平行光学系ではキャピラリー径が大きくなるにつれ、半値幅も広がり角度分解能が低下する。一方、フォーカシング集光ミラーを用いた光学系では、半値幅はキャピラリー径には大きく依存しない事がわかる。つまり、試料のハンドリングが容易な 1mmφ 程度のキャピラリーを用いることや、打錠後の錠剤の直接分析も可能である。

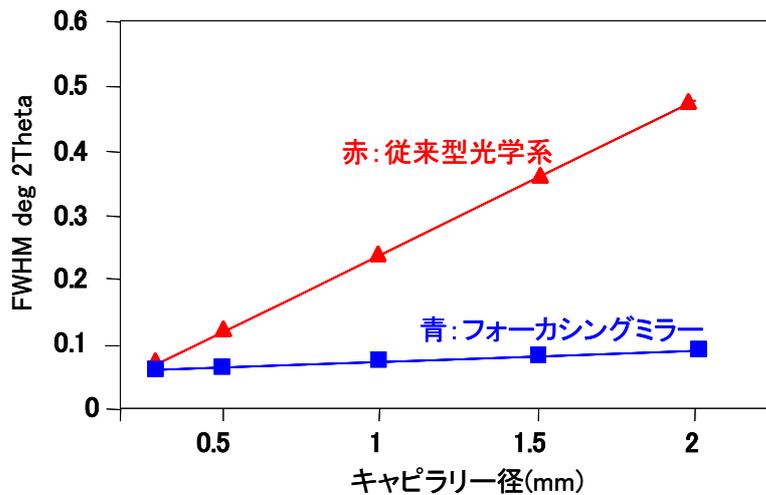


図-9 キャピラリー径と分解能の相関

4-2 応用例 フォーカシング集光ミラーを用いた錠剤の透過測定

ラクトースにアセトアミノフェンを 0.5wt%、1.0wt%、4.0wt% 及び 8.0wt% になるように精秤・混合後に打錠を行い、直径 10mmφ 厚さ 3mm の錠剤を作成した。この試料をフォーカシング集光ミラーを用い、透過法による X 線回折パターンを測定を行った。測定条件は、Cu 管球 45kV-40mA、走査範囲 2~35°(2θ)、測定時間は 5 分とした。図-10 にアセトアミノフェンとラクトース部分の拡大図を示した。この例ではプロファイルからも分かる通り、錠剤中の 0.5% の原薬の確認は容易であり、更にこの拡大図の範囲 (約 13~16°(2θ)) に要する測定時間は 1 分以内で測定が可能である。

この測定結果を基に原薬の積分強度を求め濃度との相関を取り、検量線を作成した結果を図-11 に示す。

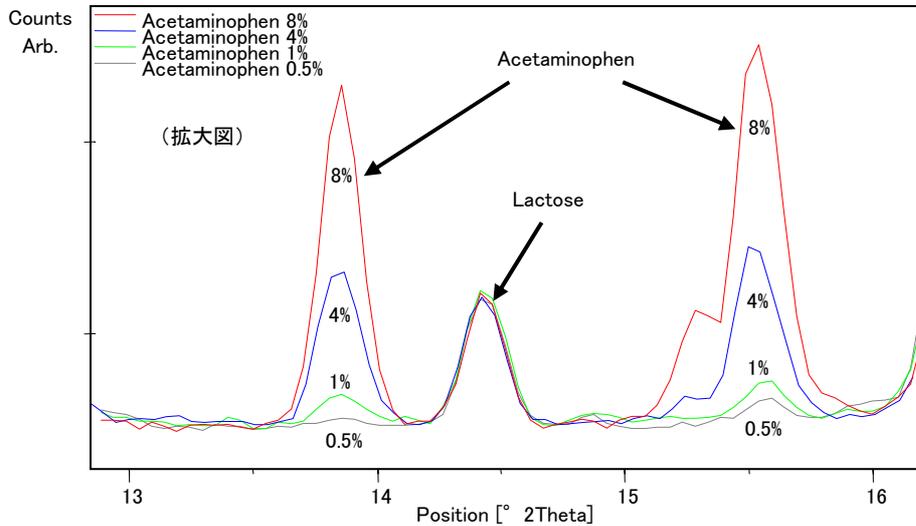


図-10 アセトアミノフェン 0.5%~8.0%錠剤の透過法 X 線回折パターン

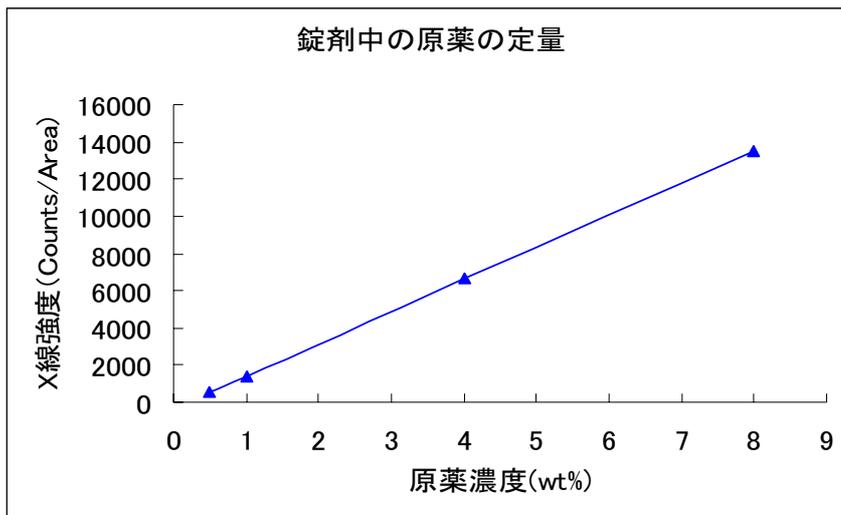


図-11 錠剤中の原薬の検量線

4-3 ハイスループット(HTS)測定

創薬研究分野では、原薬試料開発の初期段階で化合物スクリーニングの為に、膨大な数に及ぶ微量試料を測定する必要がある。従来の方法では、微量試料を無反射試料板等にマウントする、または、ガラスキャピラリーに試料を充填し測定を行ってきたが、いずれの方法も、試料のハンドリングに時間を要す為に大量試料の高速スクリーニングには程遠い状態である。

最新の X 線回折装置では、X 線ビームを検出器位置で集光することができるフォーカシング集光ミラーと XYZ ステージ、それに高速半導体検出器(PANalytical 社製 X'Celerator)を組み合わせる事により、ウェル中で結晶化した試料を連続的に直接測定することが可能である。高速検出器を用いているために、測定時間は1ポイント 1 分程度の高速測定が可能である。

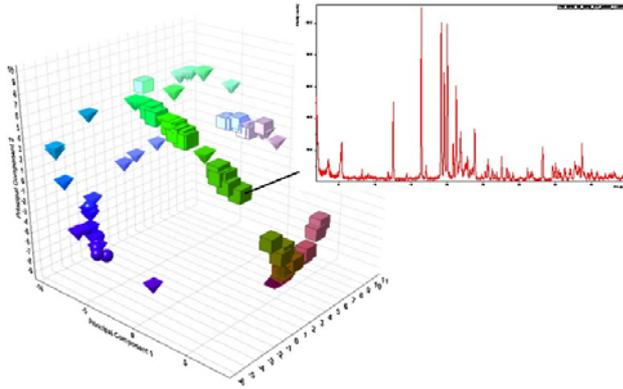


図-14 クラスタ解析表示例

5. まとめ

1次モノクロメータを用いたCuK α 1線による高分解能測定に関しては、実験室系の装置では測定時間や角度分解能の問題であまり行われていなかった。しかし、半導体高速検出器の出現により実験室装置でも高分解能測定を実現させながら、測定時間の短縮ができるようになった。その為、実験室系装置にて放射光測定の予備実験を行う事により測定試料の選択が可能になった。特に医薬品では結晶の対称性が低く、且つ結晶多形を持つ試料が多く、これらの測定において高分解能測定は必要なものとなりつつある。

フォーカシング集光ミラーと半導体高速検出器を用いた透過法による測定では、 $\alpha_{1,2}$ 線を用いるものの、高速測定と高分解能測定という、相反する測定を同時に実現させ、ルーチン分析の自動化に最適である。ウエル中の原薬を直接測定する事により、高速・高分解能化合物スクリーニングが可能となった。更に、測定後のデータ処理もクラスタ解析ソフトウェアにより個人差無く分類が可能である。また、この光学系では打錠後の錠剤を測定することも可能で、今回は触れなかったが、錠剤の透過測定をサンプルチェンジャーと組み合わせ、錠剤試料の連続自動測定が行える。

半導体アレイ検出器や各種ミラーの出現により実験室系装置による応用範囲が広がった。今後も新たな素子により応用範囲が広がっていくものと思われる。

参考文献

- 1) Detlef Beckers: "The Powder of X-ray Powder Diffraction for Pharmaceutical Analysis" G.I.T. Laboratory Journal ,pp21-23, Apr(2004)
- 2) Detlef Beckers: "X-ray Diffraction Analysis Unravels Complex Samples" Pharmaceutical Formulation & Quality magazine,Nov(2004)
- 3) 山路 功、他: 日本材料科学会誌「材料の科学と工学」 Vol.40 No.2 p17-22、(2003)
- 4) 山路 功: X線分析の進歩、36集、p.133、アグネ技術センター、(2005)
- 5) 山路 功: ファームテックジャパン、Vol.22 No.11、p.123、じほう(2006)

企業情報

スペクトリス株式会社 PANalytical 事業部
 東京都港区浜松町 1-7-3 第一ビル
 (代表)03-5733-9750
 (WEB サイト) <http://www.panalytical.jp>