

テラヘルツパルス分光分析・イメージング技術における  
TDDS製剤の品質評価技術としての適用性について

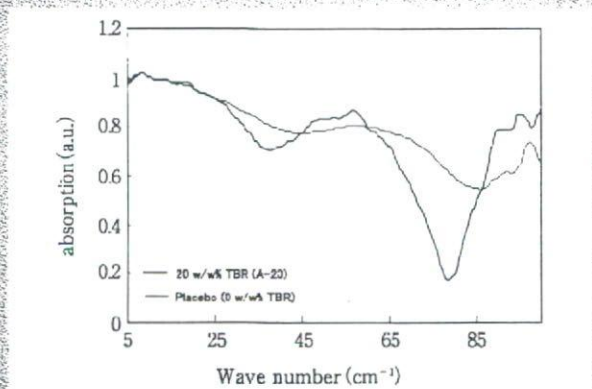


Fig. 3 THz spectra of model tape (20w/w%, A-20) and placebo tape (0w/w% TBR) obtained with quartz. The characteristic THz spectral range of TBR (from 45cm<sup>-1</sup> to 70cm<sup>-1</sup>) would be best observed if etaloning effects were not dominating the range due to the sample being so thin.

TBR in acrylic matrix, A-20)から得られたフーリエ変換THzスペクトルを示した。モデルテープから得られたTHzスペクトルについて、70~45cm<sup>-1</sup>にかけてTBRに指紋的な波形が観察された。このことは、モデルテープから得られたTHzスペクトルにおいて、TBRが含まれていることを特異的に検出することが可能であることを示唆するものである。一方で、Fig. 4(A)にTDDSモデルテープから得られたTHzイメージを示したが、図の左上にTBRの結晶と推定される塊が検出された。THzパルス分光では試料を通過する際のパルス波の屈折率の変化をコントラストの差として視覚化する。したがって、結晶辺縁部においてパルス波の非常に高い屈折率の変化が明確なコントラストを呈し、このようなイメージとして得られたものと考えている。ただし、得られたTHzイメージは屈折率の差のコントラストで視覚化されたものであることから、この結晶塊がTBRに由来するものであるということをイメージのみから判断することは困難である。この点について、得られた結晶塊がTBRであることを確認するために、結晶内で選択した領域(100×100μm)におけるTHzスペクトルをFig. 4(B)に示した。これらの図は20w/w%のTBR含量のモデルテープから得られたものであるが、青線で示した波形が結晶内部の領域から得られたTHzスペクトルを、また赤線で示した波形は結晶外部の領域(同じく100×100μm)から得られたTHzスペクトルを示している。結晶内部から得られたTHzスペクトルではFig. 3と同様に70~45cm<sup>-1</sup>にかけて

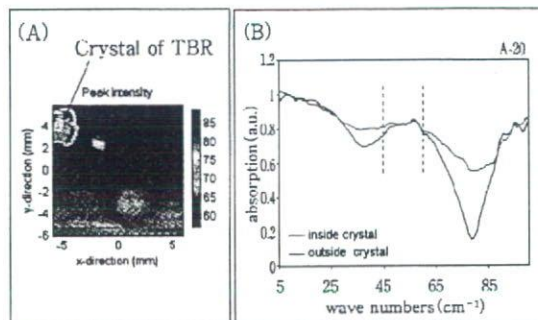
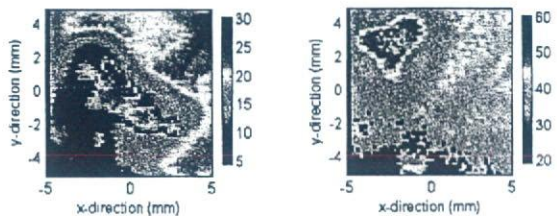


Fig. 4 The THz image of TBR crystal(A) and Fourier-transformed waveforms of pixels at the inside and the outside crystals(B), obtained from A-20. The aggregation of TBR crystal pointed by the arrow was clearly identified(A). The characteristic spectrum of TBR(from 45 cm<sup>-1</sup> to 60cm<sup>-1</sup>) would be observed from both pixels located at inside and outside of crystal, but again etaloning effects are dominating the spectra.

TBRに特徴的な波形が検出されており、このことはTBRに由来する結晶であることを強く支持することを示す。一方で、結晶の外側の部分から得られた領域のTHzスペクトルでは、Fig. 3で示したプラセボテープから得られたTHzスペクトルと類似した波形を示すもの、同じく70~45cm<sup>-1</sup>において、TBRに特徴的な吸収と重なる部分があり、このことからわずかながらにTBRが存在することが示唆された。THzイメージでは、屈折率の変化によるコントラストの差が明瞭でなければイメージとして検出することが比較的困難であると思われるが、主薬成分に特徴的な波形をTHzスペクトルにおいて精査することによってイメージでとらえることの困難な化学情報も得ることができるとと思われる。

### (3) TBR結晶のサイズと空間分解能

Fig. 5にモデルテープ(30w/w% TBR, アクリル基剤, A-30)から得られたTHzイメージを示した。2種類のイメージは同一製造ロットにおける異なるテープから得られたものである。大小の異なる大きさの結晶が生成していることがTHzイメージとして得ることができた。結晶のサイズは短い直径で0.1~0.2mm程度、長い直径で0.5~3mm程度であった。一方で、Fig. 6にプラセボテープ(0w/w% TBR, ゴム系基剤, R-0)およびモデルテープ(10w/w% TBR, ゴム系基剤, R-10)から得られたTHzイメージを示した。右側のイメージがR-10より得られたイメージである。R-10においては、微小の白色結晶



Sample with 30%  
Big crystals forming

Sample with 30%  
Smaller crystals forming

Fig. 5 THz image of TBR crystals in matrix obtained using TPI 1000: Several sizes of TBR crystals were detected in scanned area (the longer diameters: 0.5mm to 3 mm, the shorter diameters: 0.1mm to 0.2mm).

が基剤全面に析出している様子がPET製のライナーを通して視覚的にも確認できるが、R-0と同様のイメージを示し、結晶と思われるイメージは検出できなかった。この点については、空間分解能(100 $\mu$ m)より小さい直径をもつ結晶塊がゴム系基剤中で生成していたためと考えている。基剤中のTBR結晶に関しては、筆者らによる顕微レーザーラマン分光分析・マッピングを用いた解析では、TBR単結晶のサイズは6~40 $\mu$ mであり、この単

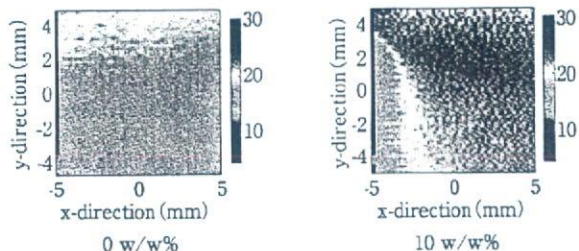


Fig. 6 THz images of model tapes (0 and 10w/w% TBR). Although, a lot of small white crystals should exist in R-10, these were not detected in the scanned area. In these cases the crystals might be smaller than the spatial resolution (100 $\mu$ m) of TPI. Further studies will need to be carried out to investigate differences in the samples.

結晶の塊がテラヘルツイメージングにおける空間分解能以下であったために検出が困難であったと考えている<sup>10)</sup>。

#### (4) 深さ方向の結晶のTHzイメージ

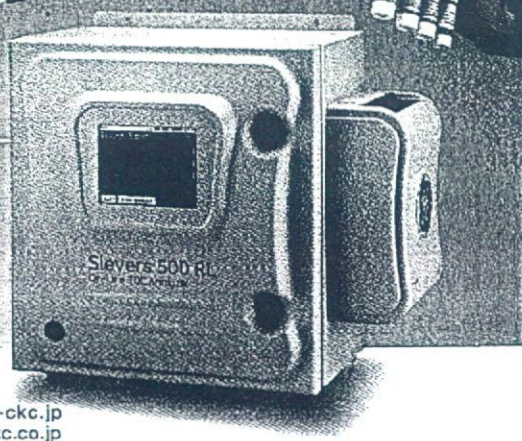
Fig. 7にはA-30から得られた結晶のTHzイメージ(A)と対応する深さ方向のTHzイメージ(B)を示した。図中の破線で囲った領域を深さ方向のイメージで示したものである。基剤中に結晶が生成し、厚みが増しているこ

# あなたのTOC計はTOCを測定していますか?

新製品

TOC分析計のクローバルスタンダード  
Sievers TOC分析計 500RL型

- 疑似TOCを排除したガス透過膜式導電率測定方式
- 校正・適合性試験をワンタッチで完全自動化
- 21 CFR Part 11電子記録サポート機能
- JP/USP/EP完全対応
- 人的エラーを削減するICチップ搭載の標準液ガードリッジ



セントラル科学株式会社

東京都文京区本郷3-23-14 ショウエイビル URL: <http://www.aqua-ckc.jp>  
TEL: 03-3812-9186 FAX: 03-3814-7538 E-mail: [central@aqua-ckc.co.jp](mailto:central@aqua-ckc.co.jp)

DM資料請求カードNo.28

テラヘルツパルス分光分析・イメージング技術における  
TDDS製剤の品質評価技術としての適用性について

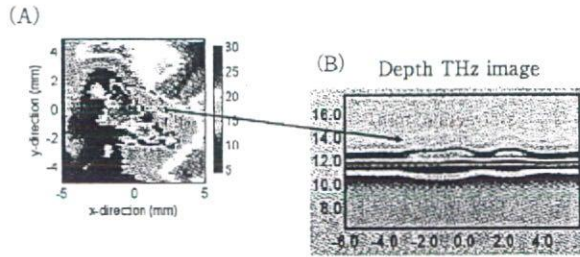


Fig. 7 THz image of TBR crystal and depth THz image of matrix (A). The depth THz image in the scanned area where the crystal is observed shows the change in thickness of the tape in the sight (B).

とがわかる。特にテラヘルツパルス分光は屈折率の高い化合物を含む試料のイメージ取得において、その強みを発揮するが、本例のような結晶の検出においては結晶辺縁部におけるパルスの非常に強い屈折率の変化を検出することによって、明確な結晶のイメージを得ることができた。

#### 4. 結論および今後の展望

テラヘルツパルス分光技術について、テープ基剤中の主薬成分の特異的検出および主薬結晶をTHzイメージとして検出することができた。市販されているテープ剤の多くは一般的に支持板が不織布、貼付面がプラスチック等で製したライナーで覆われており、外観からの直接的な検査は困難である。したがって、概して開発段階で得た結晶化の情報に基づき、結晶化に要する時間を設定し、実製造においても継続的にその時間により結晶化を担保することが多い。しかし、主薬の結晶化は基剤からの主薬の放出速度を制御するために重要な品質特性であり、可能であれば製品における結晶化の確実な確認が、より強固な品質保証のためには望ましいものと思われる。この点について、テラヘルツ波はある種のプラスチック素材を透過して内部のイメージを得ることが可能であり、将来的には一次包装されたテープ中の結晶の検出など、TDDS製剤を対象とした品質管理手法としての実用化など工程内管理への適用が期待される。

本研究に用いたTeraView社のイメージング装置では、

パルス波の屈折率等、コントラストの差をイメージングとして視覚化する。テラヘルツ波の特性上、高い空間分解能でイメージを得ることは容易ではなく、現行の市販装置では100 $\mu$ m程度が限界とされている。したがって、100 $\mu$ m未満の微細情報を通常のテラヘルツイメージング測定で得ることは困難であり、製剤における主薬の微小構造の解析やその分布を定量的に評価する場合には、これらの特性を考慮した上でデータを評価しなければならないものとする。例えば、製剤学領域でよく適用される主成分分析等の多変量解析技術を用いた場合、濃度依存的なスペクトルの変化量等を利用することで比較的容易に定量モデルを構築することは可能であると思われるが、上述したような理由により、イメージング技術等による成分分布の定量的推定では粗い結果を示す。

筆者は共同研究を行っているTeraView社の技術者らと最適な分析・イメージの作成において装置および測定に工夫しながらデータの取得および解析を行った。最近の目覚ましい研究によって、多くの研究成果があげられているが、テラヘルツ波についてはまだまだ開発途上の技術であり、分光学的なデータの解釈や測定技術に関しても基礎的研究を行う必要がある。特にここ最近の製薬分野においては、ICH Q8<sup>TM</sup>によってこれらの新規分析技術の応用研究が活発化しているが、レギュラトリーサイエンス分野における基礎分析技術として導入するにあたっては得られるデータの本質について、少なくとも適用範囲内で十分な検証がなされるべきであると筆者らは考えている。これは他の分光法においても同様であるが、データの解釈にあってはできるだけ特異性の高い手法をまず選択し、分析対象とする化合物に特徴的な波形領域を特定するなど、分析法の検証のために十分な努力を行うことが望ましいものと考えている。このように、テラヘルツ分光分析/イメージング技術が製薬分野で発展を続けるためには、PATも含めたレギュラトリーサイエンス領域での定性・定量分析的適用性の検討が不可欠であり、特にデータ解析・評価手法や分析法バリデーションなど評価基準の設定・標準化については、筆者らの研究チームでも重要項目の1つとして研究に着手している。製薬分野においては、まだまだ十分な研究が進んでいないことが現状であるが、今後、産学官のさまざまな分野の研究者による研究体制も徐々に規模が拡大するものと思われる。未知の可能性をもつテラヘルツ技術の製薬分野での導入と発展について、今後の動向に注目したい。

## おわりに

本稿は厚生労働科学研究費補助金研究(「科学とリスクマネジメント」に基礎をおいた医薬品及び医療機器の品質管理監督システムに関する研究)(H17-医薬一般-040, 主任研究者: 檜山行雄)における分担研究「経皮吸収製剤の品質確保に関する研究(分担研究者: 坂本知昭)による平成18年度研究成果の一部を紹介したものであり、日本薬学会第127年会(2007年3月、富山)およびThe International Conference of IRMMW-THz2007(2007年9月、英国・カーディフ市)で発表した内容を基に総説として再構成したものである。

### 参考文献

- 1) M. C. Kemp, P. F. Taday, B. E. Cole, J. A. Cluff, A. J. Fitzgerald, W. R. Tribe: Security applications of terahertz technology, Proceeding of SPIE 5070, Aerosense Technologies and Systems for Aerospace and Defense (2003)
- 2) Y. C. Shen, P. F. Taday, M. C. Kemp: Terahertz spectroscopy of explosive materials, Proceeding of SPIE 5619, European Symposium on Optics and Photonics in Security & Defense, Passive Millimetre-Wave and Terahertz Imaging and Technology (2004)
- 3) Y. C. Shen, T. Lo, P. F. Taday, B. E. Cole, W. R. Tribe, M. C. Kemp: Detection and Identification of explosives using terahertz pulsed spectroscopic imaging, Appl. Physics Lett., 86, 241116(1-3) (2005)
- 4) W. H. Fan, A. Burnett, P. C. Upadhyaya, J. Cunningham, E. H. Linfield, A. G. Davies: Far-infrared spectroscopic characterization of explosives for security applications using broadband terahertz time-domain spectroscopy, Appl. Spectrosc. 61(6), 638-643 (2007)
- 5) R. M. Woodward, B. E. Cole, V. P. Wallace, R. J. Pye, D. D. Arnone, E. H. Linfield, M. Pepper: Terahertz pulse imaging in reflection geometry of human skin cancer and skin tissue, Phys. Med. Biol., 47, 3853-3863 (2002)
- 6) Guang-xin Zhang, J. Chen, Ze-kui Zhou: Terahertz PT technology for measurement of multiphase flow and its infrared simulation, J. Zhejiang Univ. SCI., 6A, 1435-1440 (2005)
- 7) P. F. Taday, I. V. Bradley, D. D. Arnone, M. Pepper: Using terahertz pulse spectroscopy to study the crystalline structure of a drug: a case study of the polymorphs of ranitidine hydrochloride, J. Pharm. Sci., 92, 831-838 (2003)
- 8) M. Walther, B. M. Fischer, P. U. Jepsen: Noncovalent intermolecular forces in polycrystalline and amorphous saccharides in the far infrared, Chem. Phys., 288, 261-268 (2003)
- 9) C. J. Strachan, T. Rides, D. A. Newnham, K. C. Gordon, M. Pepper, P. F. Taday: Using terahertz pulsed spectroscopy to study crystallinity of pharmaceutical materials, Chem. Phys. Lett., 390, 20-24 (2004)
- 10) J. A. Zeitler, D. A. Newnham, P. F. Taday, T. L. Threlfall, R. W. Lancaster, R. W. Berg, C. J. Strachan, M. Pepper, K. C. Gordon, T. Rades: Characterization of temperature induced phase transitions in the five polymorphic forms of sulfathiazole by terahertz pulsed spectroscopy and differential scanning calorimetry, J. Pharm. Sci., 95, 2486-2498 (2006)
- 11) J. A. Zeitler, D. A. Newnham, P. F. Taday, C. J. Strachan, M. Pepper, K. C. Gordon, T. Rades: Temperature depend-

- ent terahertz pulsed spectroscopy of carbamazepine, Thermochemica Acta, 436, 70-76 (2005)
- 12) C. J. Strachan, P. F. Taday, D. A. Newnham, K. C. Gordon, J. A. Zeitler, M. Pepper, T. Rades: Using terahertz pulsed spectroscopy to quantify pharmaceutical polymorphism and crystallinity, J. Pharm. Sci., 94, 837-846 (2005)
- 13) G. M. Day, J. A. Zeitler, W. Jones, T. Rades, P. F. Taday: Understanding the influence of polymorphism on phonon spectra: Lattice dynamics calculations and terahertz spectroscopy of carbamazepine, J. Phys. Chem. B, 110, 447-456 (2006)
- 14) J. A. Zeitler, P. F. Taday, M. Pepper, T. Rades: Relaxation and crystallization of amorphous carbamazepine studied by terahertz pulsed spectroscopy, J. Pharm. Sci., 96, 2703-2709 (2007)
- 15) A. J. Fitzgerald, B. E. Cole and P. F. Taday: Nondestructive analysis of tablet coating thicknesses using terahertz pulsed imaging, J. Pharm. Sci., 94, 177-183 (2005)
- 16) 大森豊明監修: テラヘルツテクノロジー, NTS, 東京 (2005)
- 17) H. Wu, E. J. Heilweil, A. S. Hussain, M. A. Khan: Process analytical technology (PAT): Effects of instrumental and compositional variables on terahertz spectral data quality to characterize pharmaceutical materials and tablets, Int. J. Pharm., 343, 148-158 (2007)
- 18) 坂本知昭, 藤巻康人, 檜山行雄: 分光分析技術を用いた医薬品の品質分析手法の開発に関する研究 I, 顕微レーザーラマン分光分析・マッピングを用いたテープ剤と顆粒剤の品質評価技術としての適用性について, PHARM. TECH. JAPAN, 23 (11), 27-36 (2007)
- 19) ICH: ICHガイダンス Q8, Pharmaceutical Development

## 《新企画》PB製品《受託製造》

ドロップ剤

軟膏・クリーム・ゲル剤

チュアブル剤

チョコレート剤

ゼリー剤

美味しい・  
服み易い・  
使い易い!

医薬品を創製する

高市製薬株式会社

〒634-0145 奈良県高市郡明日香村野口10番地  
TEL 0744-54-2020(代) FAX 0744-54-4441  
URL <http://www.takaichi.co.jp>

DM資料請求カードNo.36

# 顕微赤外・顕微ラマン分光法の基礎と応用

## 第6章 顕微ラマン分光法への応用

### 第4節 顕微ラマン・赤外分光イメージングのバイオ・製薬関連への応用事例

ブルカー・オプティクス(株) 笹倉 大督  
ブルカー・オプティクス(株) 松原 智之  
国立医薬品食品衛生研究所 坂本 知昭  
東京都尾率産業技術研究センター 藤巻 康人  
東京女子医科大学 布村 渉

(株)技術情報協会

顕微赤外・顕微ラマン分光法の基礎と応用 2008.3.31 抜刷

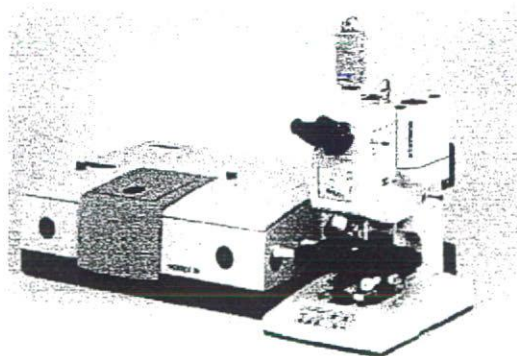
## 第4節 顕微ラマン・赤外分光イメージングの バイオ・製薬関連への応用事例

### 1. 総論

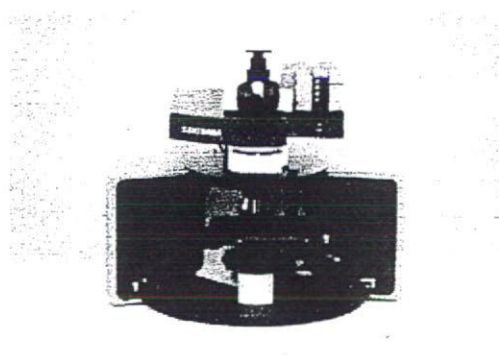
近年、ナノ・バイオ・半導体などの各種科学分野では、微細部の可視化分析技術が注目を集めている。特に、微細部の可視化という観点から考えると、原子間力顕微鏡 (Atomic Force Microscope) や走査型電子顕微鏡 (Scanning Electron Microscope) などがよく用いられる。しかし、これらはあくまでも形態観察であり、化学的な化合物そのものの情報を得るものではない。材料微細部観察と共に重要になるのは、物質そのものの同定である。その同定にもっとも有効なツールとして考えられるのが赤外分光法ならびにラマン分光法である。

赤外分光、ならびにラマン分光法はいずれも有機分子の骨格振動・分子間振動を観察できる。しかも、その振動に基づくスペクトルは、有機物質特有のパターンを示す。このことから、赤外、ラマン分光法によって得られたスペクトルは、「物質の指紋」ととらえられる。これらの分光法と顕微鏡を組み合わせたユニットが、顕微赤外、ラマン分光法である。得られたスペクトルデータ、すなわち、物質の指紋からライブラリーによる同定も可能である。この手法は、微小部の顕微鏡観察的な可視画像と物質特有の指紋スペクトルとを組み合わせ、化学物質の分布の観察、あるいは、微細な異物の分析等に用いられ、その応用範囲は極めて広範にわたっている。

本稿では、弊社ブルカー・オプティクス株式会社が提供する顕微赤外分光器 (図 1(a))、顕微ラマン分光器 (図 1(b)) を用いた、生物化学 (バイオ分野)・製薬に関するアプリケーション例を紹介する。



(a) 顕微赤外分光装置；外観



(b) 顕微ラマン分光装置；外観

図 1

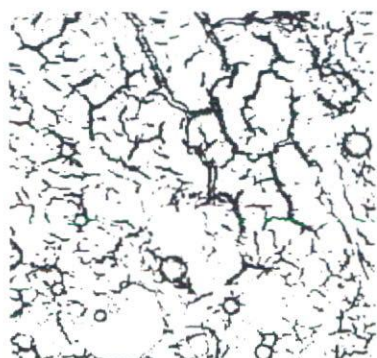
## 2. 顕微赤外イメージングのバイオ・製薬分野へのアプリケーション

### 2.1 顕微赤外イメージングのバイオ分野への応用

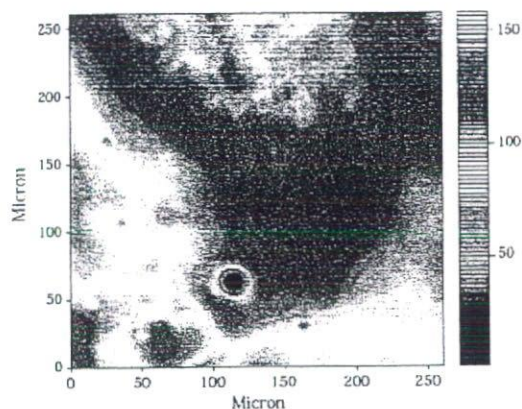
1971年に出版されたParkerの著書には、赤外分光法によるタンパク質や核酸の研究ばかりか、赤外分光法の微生物学や医学への応用などについても記されている。したがって、NMR・X線・CDなどよりもっと早く、実に30年以上前から実用化に向けて研究がなされてきた。昨今、分析機器の精度・感度ともに向上したこと、二次元アレイ検出器（Focal Plane Array Detector）の利用などにより、バイオ分野における顕微赤外分光も広がりを見せている。また、スペクトル解析技術も、コンピューターの発達により向上しており、従来の特異吸収による分布図作成という単純な解析のみならず、多変量解析手法を応用する複雑な解析も可能となっており、これらの組み合わせにより、大きく変革がなされている現状がある。本単元では、これらの中から、いくつかユニークな事例をいくつか紹介する。

### 2.2 腎臓組織への薬剤の分散状態解析<sup>1)</sup>

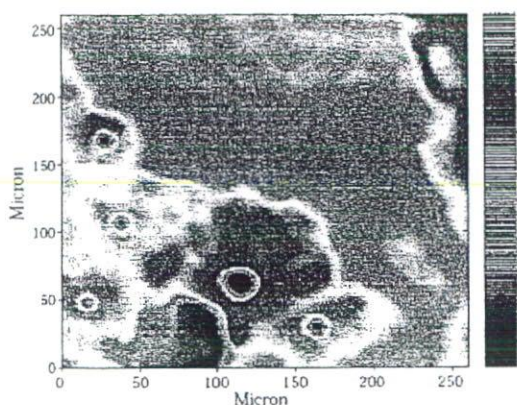
生体内の薬物動態を解析するには、形態観察のみでは不十分である。薬剤の分散状態は、正確には、化学物質そのものの情報を捉える必要があるためである。このような事例においては、顕微赤外イメージングは薬剤の化学構造に基づく吸収による分布図が得られるので有用と考えられる。本事例は、マウスの腎臓組織への薬物の分散状態を解析した例である。その顕微鏡可視画像、赤外画像を図2(a)～(d)にそれぞれ示した。使用機器はブルカー・オプティクス社製顕微イメージングシステム HYPERION3000 システムで、15  $\mu\text{m}$  の腎臓組織測薄切片を、測定面積 270  $\mu\text{m} \times 270 \mu\text{m}$ 、1ピクセルあたりのエリア面積は 4  $\mu\text{m}$  で測定を行った。結果として、薬剤はタンパク質と同様の領域に多く存在することが観察できた。



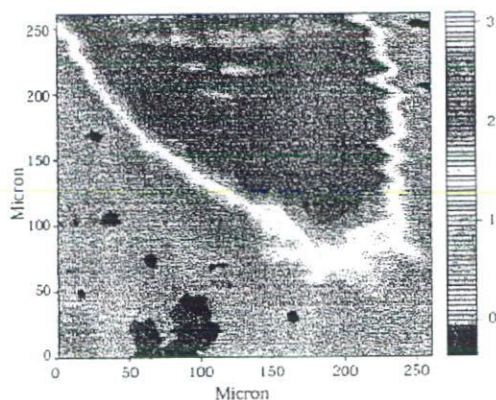
(a) 可視画像



(b) タンパク質 ( $\int 1700-1480 \text{ cm}^{-1}$ )



(c) 脂質 ( $\int 3000-2800 \text{ cm}^{-1}$ )



(d) 薬剤の特異吸収  
( $\int 1355-1270 \text{ cm}^{-1}$ )

図2 (a) 可視画像 (b) タンパク質 ( $\int 1700-1480 \text{ cm}^{-1}$ )  
(c) 脂質 ( $\int 3000-2800 \text{ cm}^{-1}$ ) (d) 薬剤の特異吸収 ( $\int 1355-1270 \text{ cm}^{-1}$ )

※カラーの図は巻頭ページ参照

### 2.3 顕微LW-NIR分光法による永久プレパラート類の測定事例<sup>2)</sup>

生体試料の切片観察は、光学顕微鏡による観察が多数を占めており、その重要性は変わらない。その試料の多くは、パラフィン埋没法などで試料を固定し、染色・前処理を経たのち、薄切片を作成したのち、カナダバルサムなどの接着剤で固定される。これは永久プレパラートと呼ばれ、試料の永久的な長期保存が可能であり、顕微鏡観察科学の初期から多く用いられてきた手法である。しかし、本手法はあくまでも形態観察であり、化学的な化合物そのものの情報を得るのには適してはいない。形態観察と共に重要になるのは、化学的な同定に基づいた分布図である。従来、このような要求に答えるもっとも有効な方法は、顕微中赤外分光法ならびに顕微ラマン分光法である。しかし、これらの手法は特に永久プレパラート類の観察に関して、有効とは考えられない。その理由は、サンプルが貴重で、なおかつ接着剤でガラス板に固定・封入されており、開封



ができない。したがって、ガラス越しの測定となるが、ガラスは中赤外領域においては、透過率が低い。反射測定も同様の理由から困難である。

本単元で紹介するのは、LW-NIR (Long Wavelength NIR ; 長波長-近赤外) 領域を用いた永久プレパラート類のケミカルイメージング測定事例である。本手法を用いると、永久プレパラートを非破壊で簡便に測定可能であり、なおかつ化学的な情報も多く得られることから、大変興味深い。

### 2.3.1 LW-NIR (Long Wavelength NIR ; 長波長近赤外) 領域

LW-NIR (長波長-近赤外) 領域とは、筆者らの提案する光線領域に対する名称で、波数にして  $3000\text{cm}^{-1} \sim 6000\text{cm}^{-1}$  をさす (図3)。この領域は、中赤外領域 ( $400\text{cm}^{-1} \sim 4000\text{cm}^{-1}$ ) と近赤外領域 ( $4000\text{cm}^{-1} \sim 12000\text{cm}^{-1}$ ) の遷移領域であり、ガラスやポリマーなどに対し、透過性が高い。したがって、永久プレパラート試料などを透過的に測定する。しかも、近赤外領域における結合音と呼ばれる領域にも該当し、化学的な情報にも富んだ境域である。また、波長が中赤外領域と比較して短いことから、容易に高空間分解能を得ることができる。測定には、ブルカー・オプティクス社製顕微赤外分光システム、Vartex70 + HYPERION2000 システムを用いた。イメージング解析は、ブルカー・オプティクス社製解析ソフトウェア OPUS を用いて行った。まず主成分分析 (PCA) を取得スペクトルデータに対して行い、その各主成分スコア値を基にイメージング図を作成した。

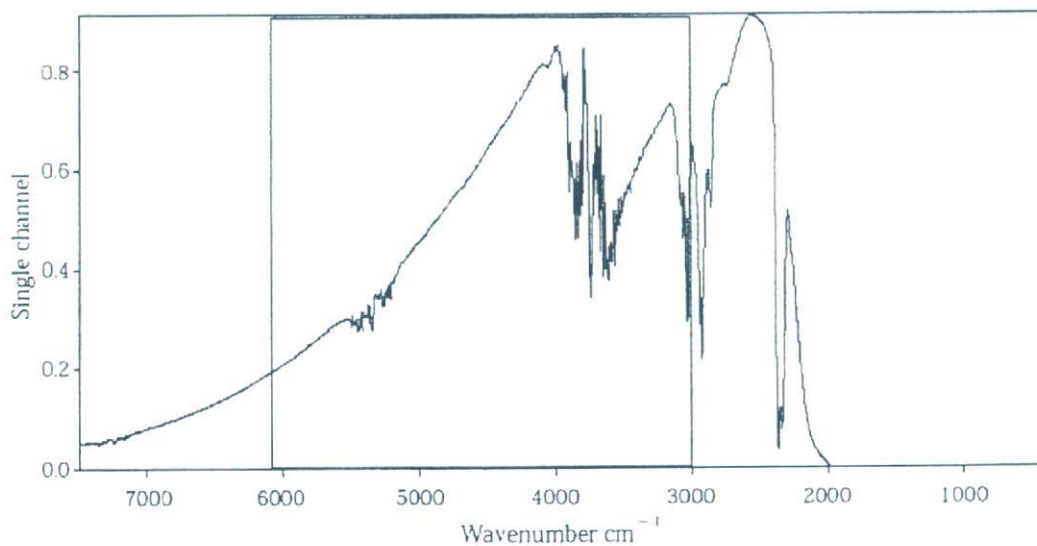


図3 LW-NIR 領域

### 2.3.2 腫瘍部位の永久プレパラートのLW-NIRケミカルイメージング

ネズミに人為的に腫瘍を誘発し、その腫瘍部位の切片を永久プレパラートにしたものに、LW-NIRケミカルイメージングを実施したものを図4に示す。イメージング図は約7  $\mu\text{m}/\text{Imaging}$  で取得した。スコア値の高低は、色の濃淡で各々示してあり、色の濃い部位が各当該ローディングに対し、スコア値が高いことを示す。このように、LW-NIRケミカルイメージング技術を用いると、永久プレパラートにしたサンプルでも有為な情報・イメージングを得ることができた。

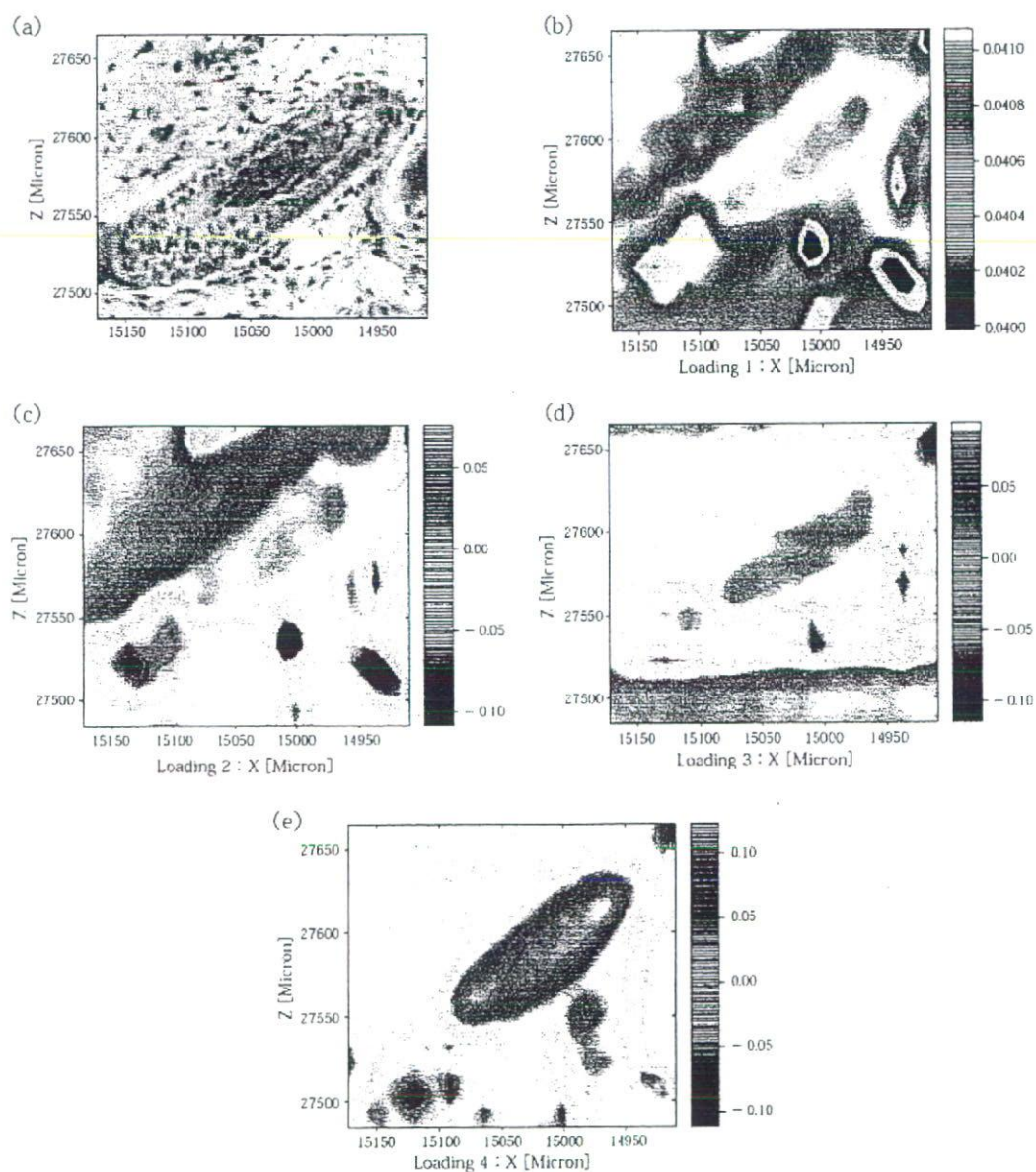


図4 (a) 可視画像 (b) Loading 1 Plot (c) Loading 2 Plot (d) Loading 3 Plot (e) Loading 4 Plot

※カラーの図は巻頭ページ参照

## 2.4 顕微赤外イメージングの製剤分野への応用

製薬においては、固形製剤、特に錠剤は数種の粉体を混合して作成される。それらが適切な配合比で、その製剤が作りこまれているかという点は、重要である。なぜならば、含量均一性試験である薬物の含量が一定であっても、同じ錠剤の中である特定の物質のみが凝集などを起こす(偏析している)場合、その溶解性に大きな影響を及ぼす可能性があり、当然のことながら、その薬理効果も大きく異なる。このような点から、固形製剤中の薬物の分散状態は重要視されている。これらを解析するには、イメージング技術が最適と考えられているが、そのイメージングに関しても、近赤外・中赤外と2つのイメージング技術が注目を集めている。各々について、特徴の異なる技術ではあるが、双方とも、適切に利用すれば非常に有用な手法である。本単元では、特に中赤外分光法を取り上げ紹介する。

## 2.5 顕微中赤外イメージングを用いた各種錠剤の測定事例

顕微中赤外分光法を用いると、単純なアパーチャー分割によるマッピングイメージングの空間分解能が近赤外、Ramanなどに比べて低いという欠点がある。また、錠剤を形成する粒子の大きさが中赤外の波長に該当する場合が多く、その粒子の大きさに依存し、拡散反射と異常屈折を起こした一次微分形のゆがみなどが混在して現れる場合も多く、解釈を複雑にする場合がある。しかし、それらを鑑みても近赤外分光法と比較して官能基の帰属が容易である点や、近赤外分光法では必須とされている多変量解析的手法を用いなくてもよい点、確実に表面の情報を取得できる点から来る解釈の容易さなどを考慮に入れると、利点も多い。また、ATR イメージング手法などを組み合わせることにより、高S/N、高空間分解能も得られることから、微細部分分析などにも幅広く適用可能な技術であると言える。

まず始めに有核錠剤の中赤外領域におけるマッピング測定事例を図5に示した。使用機器はブルカー・オプティクス社製 HYPERION2000 を用い、5mm × 5mm のエリアを測定し、ピクセル分解能は20 μmであった。ここで示したように、可視的には明らかに色が2成分に分けられているようなサンプルでも、境界線に化学成分に基づく違いが現れることが観察できた。

続いて、二次元アレイ検出器を用いたある種の錠剤の測定事例を図6に示す。使用機器はブルカー・オプティクス社製 HYPERION3000 を用い、500 μm × 500 μm のエリアで測定し、ピクセル分解能は約2 μmであった。その結果、主薬と賦形剤の相補的な分布状況が多変量解析手法を用いることなく、明確に観察できた。

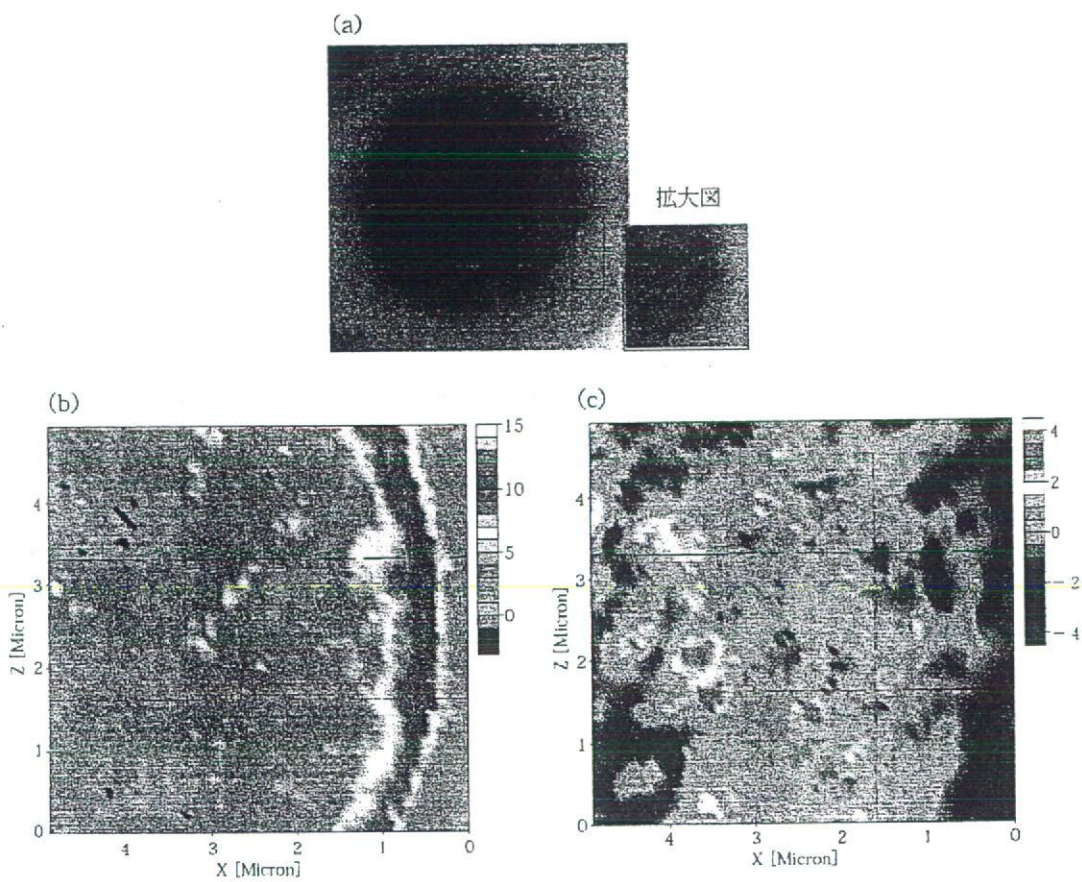


図5 (a) 錠剤可視画像 (b)  $3000-3500\text{cm}^{-1}$  でマッピング (c)  $1500-1600\text{cm}^{-1}$  の積分値でマッピング

いずれも、K-M 変換による反射測定。測定範囲、 $5\text{mm} \times 5\text{mm}$  エリア、 $20 \mu\text{m}/\text{Pixel}$

※カラーの図は巻頭ページ参照

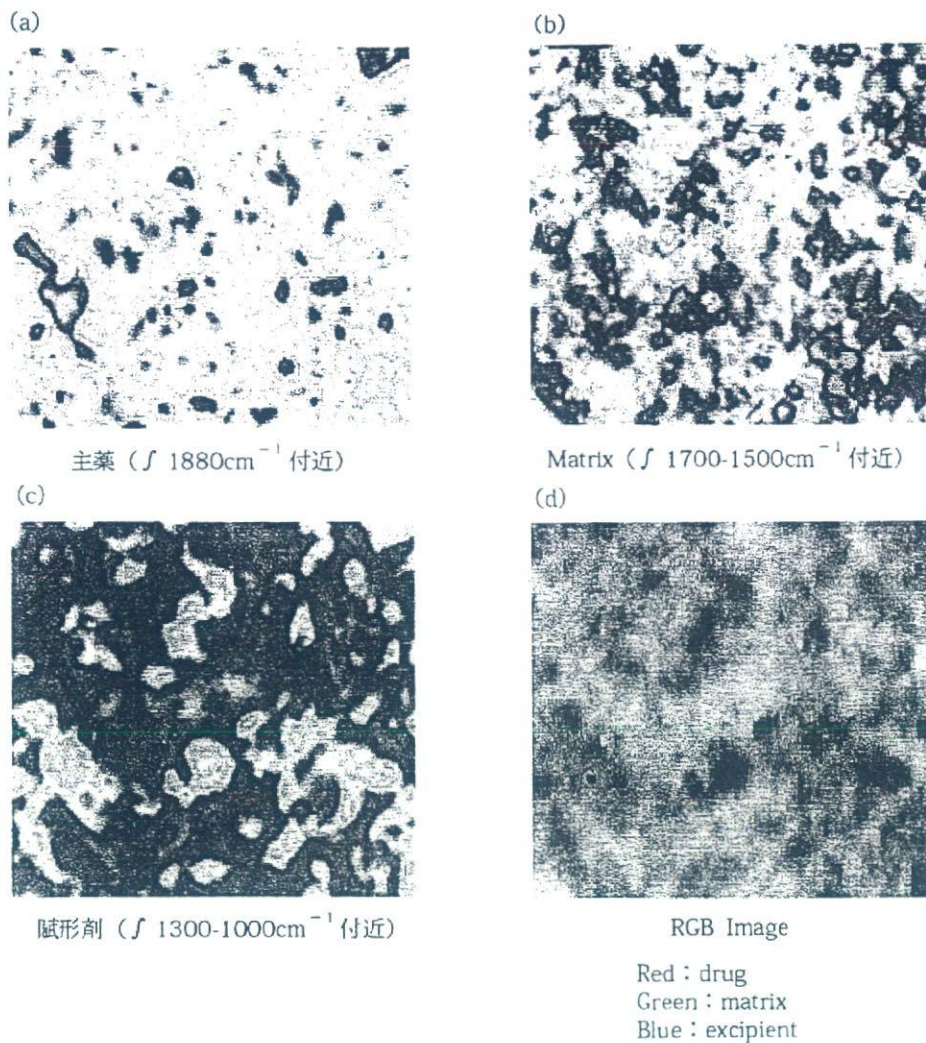


図6 (a) 主薬のマッピング ( $\int 1880\text{cm}^{-1}$  付近) (b) Matrix ( $\int 1700\text{-}1500\text{cm}^{-1}$  付近)  
(c) 賦形剤 ( $\int 1300\text{-}1000\text{cm}^{-1}$  付近)  
(d) RGB イメージング (Red, 主薬; 緑, Matrix; 青, 賦形剤)

※カラーの図は巻頭ページ参照

### 3. 顕微 Raman イメージングの製剤技術分野へのアプリケーション

#### 3.1 顕微 Raman 分光イメージングと製剤技術

近年, ICH Q シリーズに代表される概念・手法として, クオリティー・バイ・デザイン (QbD, 開発段階で品質を創り込んでいくこと), デザインスペース (製造管理上品質に影響を与えないと推定される管理パラメータの幅), 工程分析技術 (Process Analytical Technology : PAT) が取り上げられている。これらにより研究開発段階によるより深い製品の理解が得られるばかりでなく, 工程管理に対するより高度で科学的な管理体制を構築することが可能となる。一方で, 実製

造の開始後に得られる新しい知識のフィードバックによる「継続的改善」がより優れた医薬品の品質を達成するために必要であると提唱されている<sup>3)</sup>。

これらの医薬品の品質における新しいパラダイムの下で、製剤開発での医薬品の品質に関する理解をより深めるために、非破壊で迅速な分光学的情報を得ることが可能な分光分析技術が着目されている。特に製品における主薬等の分布を視覚的に表すことのできるケミカルイメージングまたはケミカルマッピング手法が製剤学上の問題の解明に適用できるのではないかと期待されている。

本単元では、顕微レーザーラマン分光分析・マッピング (MLRSM) 技術を用いた経皮吸収型薬物送達システム (TDDS) 製剤中の主薬結晶の検出および造粒物評価への適用性について紹介する<sup>4)</sup>。顕微レーザーラマン分光分析およびマッピングは、分散型顕微レーザーラマン装置 SENTERRA (ブルカー・オブティクス株式会社製 (図 1(a)) ) を用いて行った。SENTERRA は、コンパクトに洗練された統合型分光器モジュールを有しており、高感度でスペクトルを得ることが可能である。また、SENTERRA は自動蛍光除去機能「AFR」、自動波数補正機能「Sure\_Cal」、フレックスフォーカス機能など様々な機能が搭載されている。

### 3.2 TDDS 製剤中のツロブテロール (TBR) の検出に関する研究

TBR の特異的なラマン吸収を得るために、TBR 原体およびプラセボテープについてラマンスペクトル測定を行った (図 7)。両ラマンスペクトルを比較した結果、TBR に特徴的な吸収ピーク (波数  $415\text{ cm}^{-1}$ , C-C の変角振動) が認められ、この吸収の積分値を基にラマンマップを作成した。

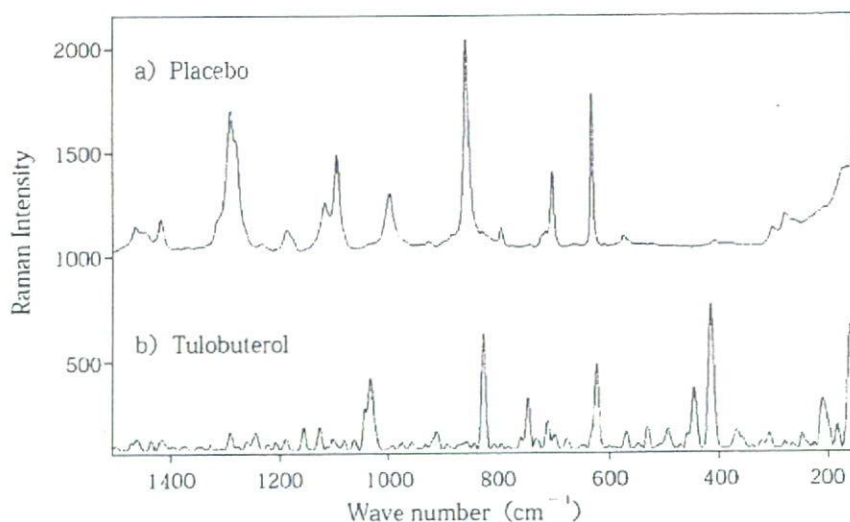
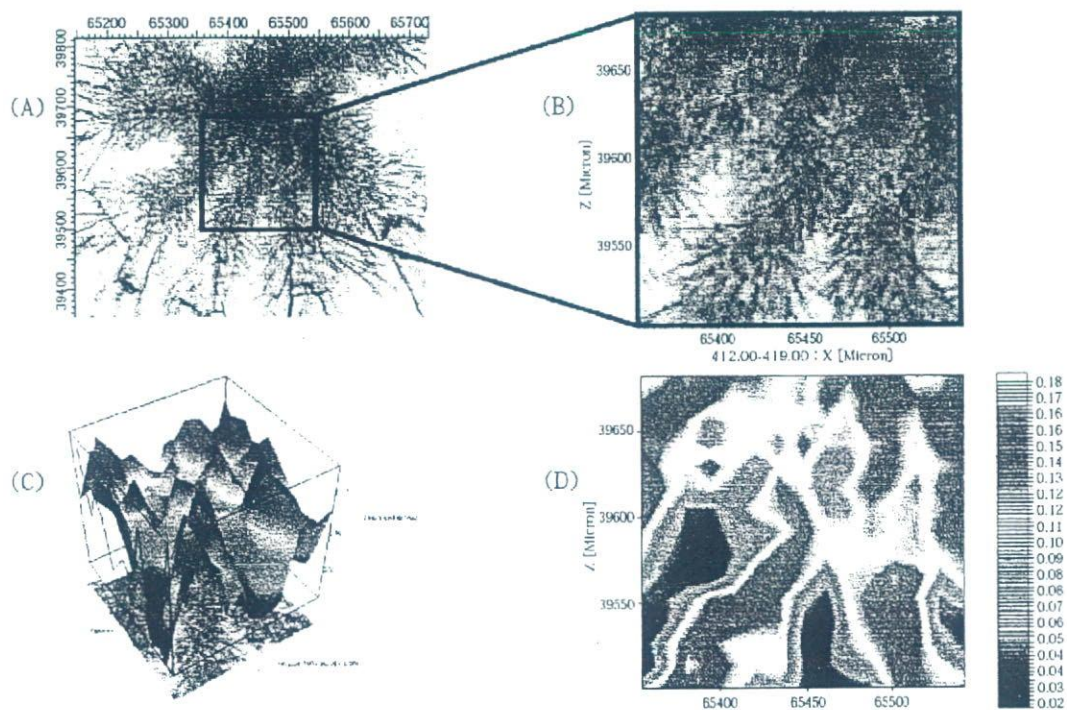


図 7 プラセボ (a) と TBR 標準物質 (b) のラマンスペクトル

アクリル系基剤に対する TBR の溶解性が高く、20w/w% の TBR 濃度 (A-20) においては、点状に核様の結晶が観察された。A-20 の結晶核様部分を含む範囲から得られた顕微写真およびラマンケミカルマップを図 8 (A-D) に示した。図 8 (A) は、基剤面の  $600\ \mu\text{m} \times 500\ \mu\text{m}$  の範囲で得られた顕微写真であり、結晶の核と思われる中心部より樹枝のように放射状に伸びる結晶塊が観察された。図 8 (B) は、 $200\ \mu\text{m} \times 200\ \mu\text{m}$  の領域に拡大した顕微写真を示している。この領域に対応したラマンケミカルマップを図 8 (D) に示した。なお、赤色部分が TBR から得られたラマン強度が強い部分を示す。その結果、顕微写真で観察された TBR 結晶と対応したラマンマップを得ることができた。顕微視的な TBR 結晶の平面的観察と比較して、ラマン吸収の強度による TBR の相対的な濃度分布が明確に示された。また、その三次元ラマンマップ図 8 (C) のように、深さ方向のラマン吸収の強度を示すことによって、より明確な濃度分布の視覚的な確認が可能となった。



(A: 光学顕微写真 ( $600\ \mu\text{m} \times 500\ \mu\text{m}$ ), B: 拡大した光学顕微写真 ( $200\ \mu\text{m} \times 200\ \mu\text{m}$ ),  
C: D に対応した 3D ラマンケミカルマップ, D: B に対応したラマンケミカルマップ)

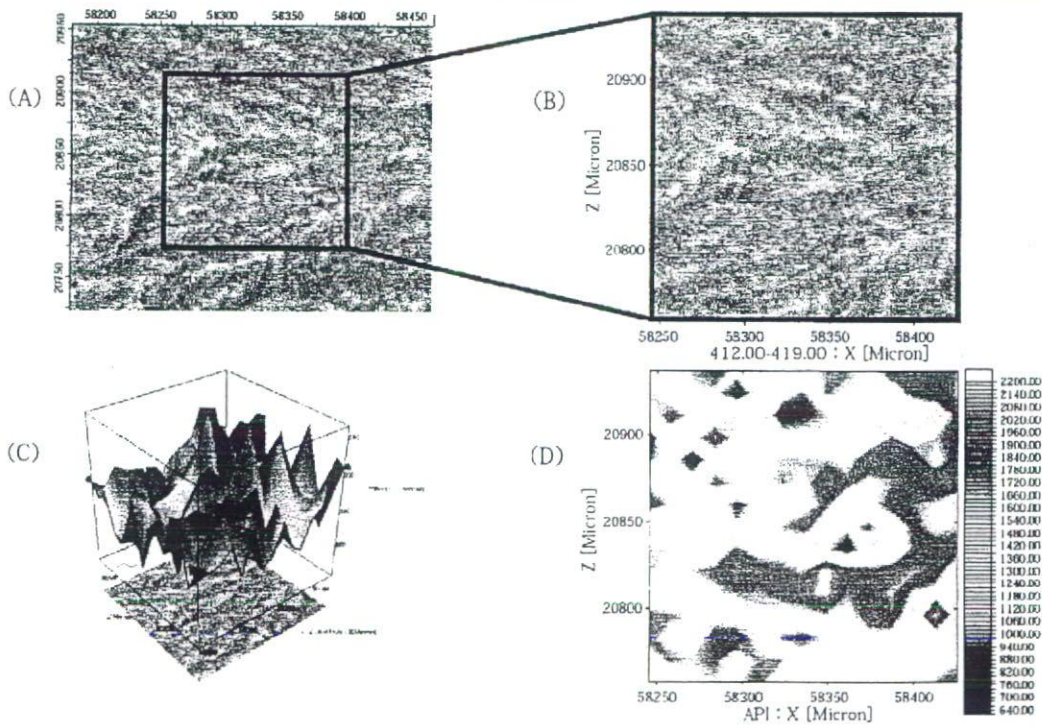
図 8 モデルテープ (アクリル系, A-20) から得られた光学顕微写真およびラマンケミカルマップ

※カラーの図は巻頭ページ参照

アクリル系基剤に対する TBR の溶解性は高く、ゴム系基剤と比較して 3 倍の 30w/w% の TBR 濃度 (A-30) においても基剤全面に白色の結晶が目視にて観察された。A-30 から得られた顕微写真およびラマンケミカルマップを図 9 (A-D) に示した。顕微視的には山脈状に見える結晶塊が測定範囲一面に広がっていることが推察された (図 9(A, B))。3D ケミカルマップにおいて深さ方向の吸収強度の差が小さいことから、測定範囲のほぼ全面に TBR 結晶が密に析出していることがわかった。

図 10 に、市販テープから得られた顕微写真およびラマンケミカルマップを示した。6  $\mu\text{m}$   $\times$  15  $\mu\text{m}$  から 30  $\mu\text{m}$   $\times$  40  $\mu\text{m}$  のサイズの丸みを帯びた円柱形の TBR 結晶が検出され、顕微写真で観察された TBR 結晶と対応したラマンマップを得ることができた。

以上、ラマンケミカルマッピング技術を用いることにより、高分子中の結晶の分布、および成長過程を追跡することが可能であることが示唆された。

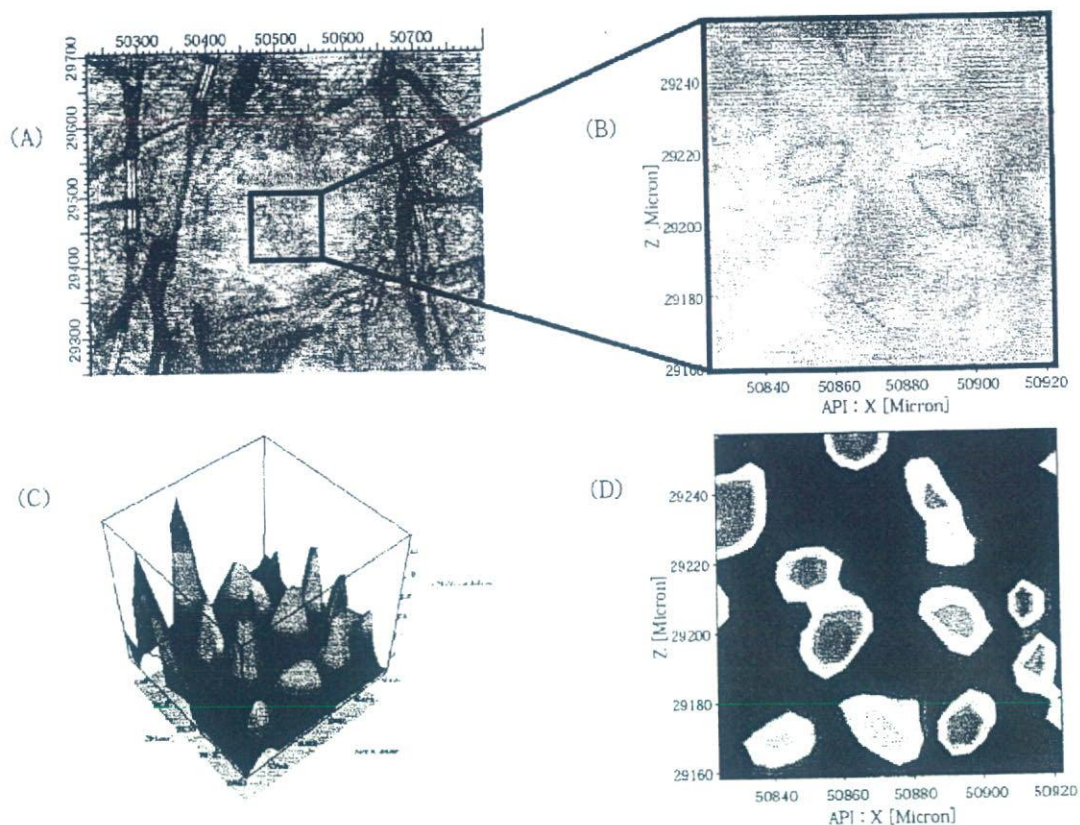


(A: 光学顕微写真 (600  $\mu\text{m}$   $\times$  500  $\mu\text{m}$ ), B: 拡大した領域 (200  $\mu\text{m}$   $\times$  200  $\mu\text{m}$ ), C: D に対応する 3D ラマンケミカルマップ, D: B に対応するラマンケミカルマップ)

図 9 モデルテープ (アクリル系, A-30) から得られた光学顕微写真とラマンケミカルマップ

※カラーの図は巻頭ページ参照





(A : 光学顕微写真 (570  $\mu\text{m}$   $\times$  450  $\mu\text{m}$ ), B : 拡大した光学顕微写真 (100  $\mu\text{m}$   $\times$  100  $\mu\text{m}$ ),  
C : D に対応する 3D ラマンケミカルマップ, D : B に対応するラマンケミカルマップ)

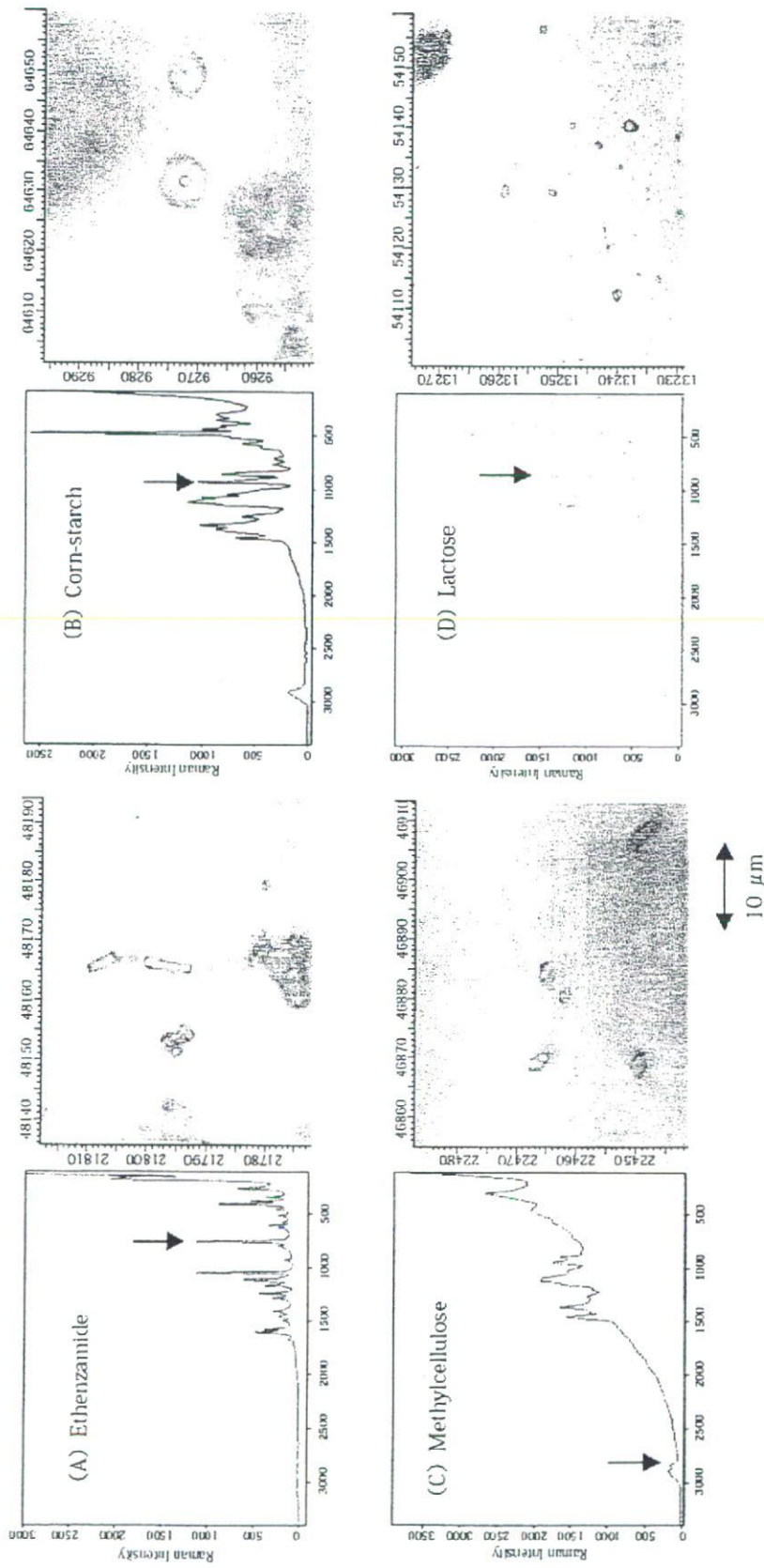
図 10 市販テープから得られた光学顕微写真とラマンケミカルマップ (2mg TBR in tape)

※カラーの図は巻頭ページ参照

### 3.3 高速攪拌造粒による造粒物および造粒過程の解析に関する研究

エテンザミド、コーンスターチ、メチルセルロース、乳糖の4成分系について、高速攪拌造粒による造粒物および造粒過程について検討を行った。図 11 にそれぞれの原料粉体の顕微写真とラマンスペクトルを示した。これらのスペクトルについて、特徴的なピーク（エテンザミド： $780\text{cm}^{-1}$ 、コーンスターチ： $940\text{cm}^{-1}$ 、乳糖： $900\text{cm}^{-1}$ 、メチルセルロース： $2800\text{cm}^{-1}$ ）の積分値を基にラマンマップを作成した。

高速攪拌造粒により製した造粒物表面の各成分のラマンスペクトルを図 12 に示した。各成分のラマンケミカルマップについて、左から造粒開始後3分、5分、10分のマップを示している。この実験で用いた各原料の割合はエテンザミドが70w/w%であり、測定領域において多く存在していることを裏付ける結果を示した。一方で、メチルセルロースは経時的に測定範囲において検出されたドメインの数が少なくなっており、回転時間の経過に伴い分散が進んでいることを示唆していた。また、コーンスターチと乳糖において経時的に同様の分布を示す傾向があることが



(A:エテンザミド, B:コンスターチ, C:メチルセルロース, D:乳糖)  
 図11 顆粒を構成する4成分の原料におけるそれぞれのラマンスペクトル

※カラーの図は巻頭ページ参照

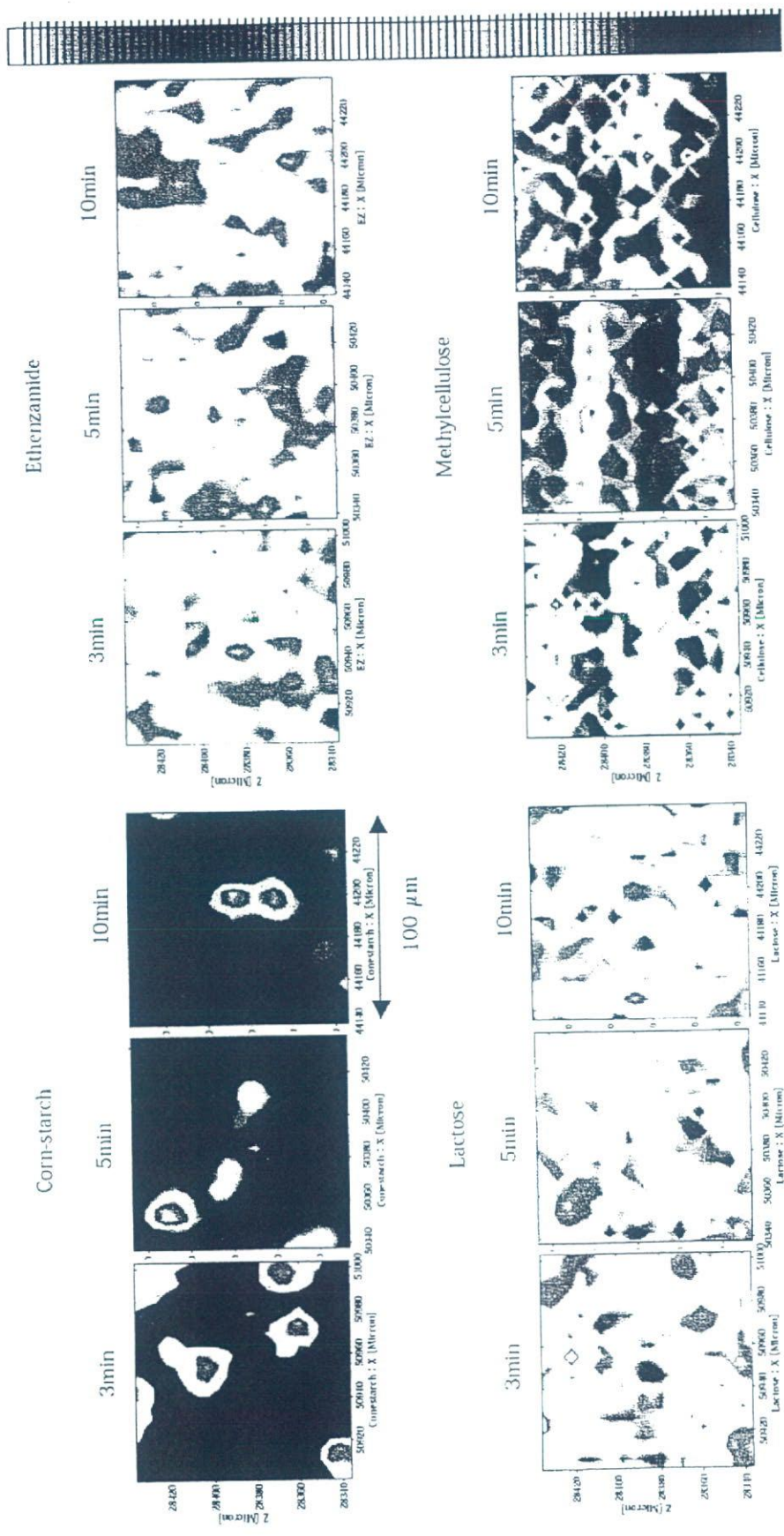


図 12 高速攪拌造粒により製した顆粒表面における各成分のラマンスペクトル  
(左から 3 分, 5 分, 10 分の造粒時間)

※カラーの図は巻頭ページ参照

観察された。

回転数 120rpm で 10 分間造粒した顆粒の顕微写真について図 13 に示した。顕微視的な顆粒表面の粒子の形状及び大きさは比較的均等に揃っており、混合攪拌造粒により製した造粒物と比べて視覚的な識別は困難であった。また、形状等により比較的原料の推定が可能な粒子を選別してラマン測定を試みたところ、最も含量の高いエテンザミドのスペクトルが大きく反映された、全ての成分が混在するスペクトルが認められた。しかしながら、特徴的なラマン散乱の検出により各原料成分を特定することが可能であった。

このように、混合スペクトルを用いたケミカルマップの作成において、混在する成分において互いに重なり合わない各成分に特徴的なラマン散乱の強度を用いることで、各ピクセルにおいて特異性の高い成分の同定が可能であった。顕微ラマン測定では、条件によっては  $1\ \mu\text{m}$  の空間分解能で測定できるため、単粒子レベルでの微視的観察が可能である。また、これらの各成分のラマン散乱強度を正規化して組み合わせることによって、より高精度の定量的分布の推定が達成できるようになるとと思われる。

おわりに

顕微赤外・近赤外レーザーラマン分光・マッピング技術を適用することで、試料を破壊することなく、ケミカルマッピングを得ることができた。テープ製剤の結晶の分布や、造粒物の混合状態の評価に限らず、高分子固体分散体制剤などのフィルム状、多層形態を有する他の機能性医薬品の解析などにも適用できる可能性を有していると考えられる。また顕微マッピング技術と特異的検出手段の組み合わせによって、化学分布を用いた製剤品質の評価において、より正確な定量分析的適用も可能となると考えられる。

顕微レーザーラマンスペクトルおよびマッピング技術の今後の発展として、PAT への適用性についても期待されている<sup>5,6)</sup>。特に品質試験など、製品の安全性や有効性の保証を与える分析技術においては、得られるデータの解析・評価のプロセスにおいても高い信頼性が求められるべきである。

以上、顕微赤外・近赤外レーザーラマン分光分析・マッピング技術の医薬品品質解析への適用性について紹介した。これらの分析技術は従来まで明らかでなかったミクロな品質特性を解明するために非常に重要な役割を果たしていくものと考えている。