

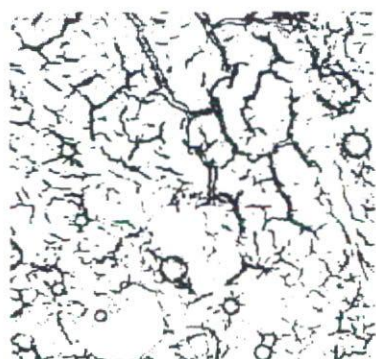
## 2. 顕微赤外イメージングのバイオ・製薬分野へのアプリケーション

### 2.1 顕微赤外イメージングのバイオ分野への応用

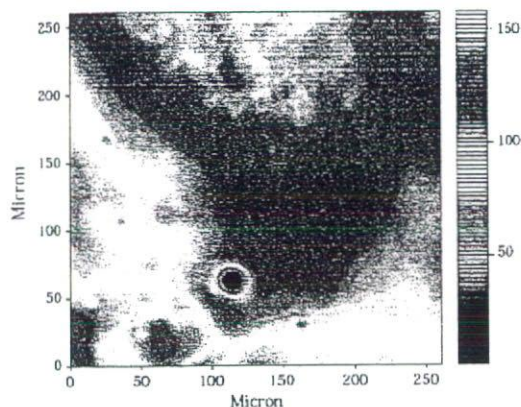
1971年に出版されたParkerの著書には、赤外分光法によるタンパク質や核酸の研究ばかりか、赤外分光法の微生物学や医学への応用などについても記されている。したがって、NMR・X線・CDなどよりももっと早く、実に30年以上前から実用化に向けて研究がなされてきた。昨今、分析機器の精度・感度ともに向上したこと、二次元アレイ検出器（Focal Plane Array Detector）の利用などにより、バイオ分野における顕微赤外分光も広がりを見せている。また、スペクトル解析技術も、コンピューターの発達により向上しており、従来の特異吸収による分布図作成という単純な解析のみならず、多変量解析手法を応用す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>

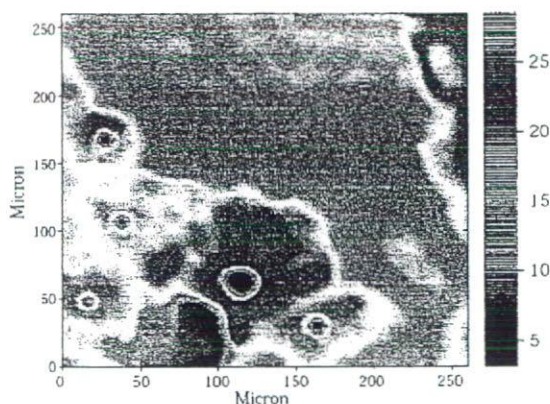
生体内の薬物動態を解析するには、形態観察のみでは不十分である。薬剤の分散状態は、正確には、化学物質そのものの情報を捉える必要があるためである。このような事例においては、顕微赤外イメージングは薬剤の化学構造に基づく吸収による分布図が得られるので有用と考えられる。本事例は、マウスの腎臓組織への薬物の分散状態を解析した例である。その顕微鏡可視画像、赤外画像を図2(a)～(d)にそれぞれ示した。使用機器はブルカー・オプティクス社製顕微イメージングシステム HYPERION3000 システムで、15  $\mu\text{m}$  の腎臓組織測薄切片を、測定面積 270  $\mu\text{m}$   $\times$  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。



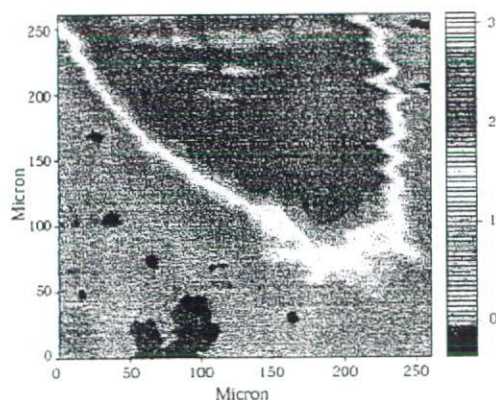
(a) 可視画像



(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。

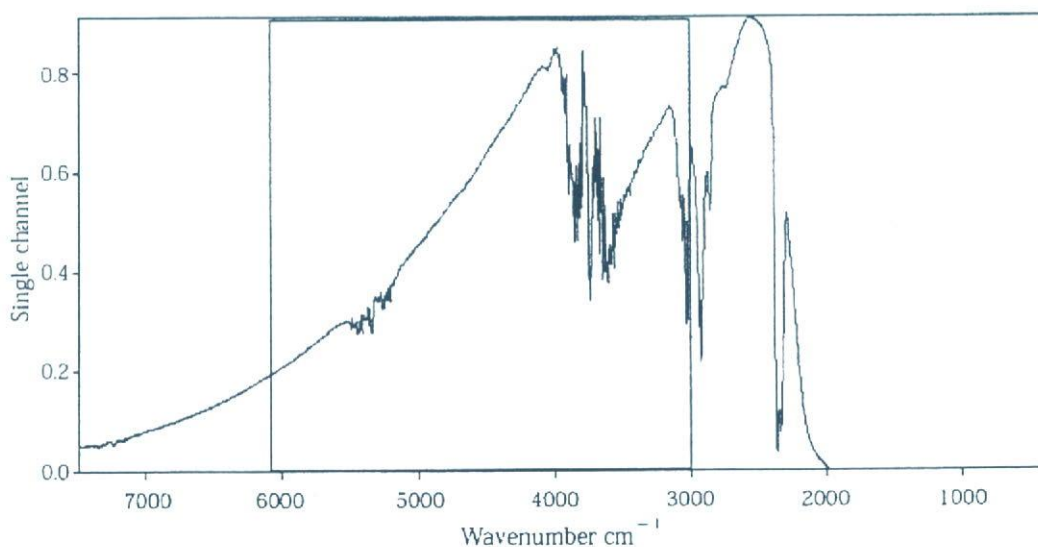


図3 LW-NIR 領域

### 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。

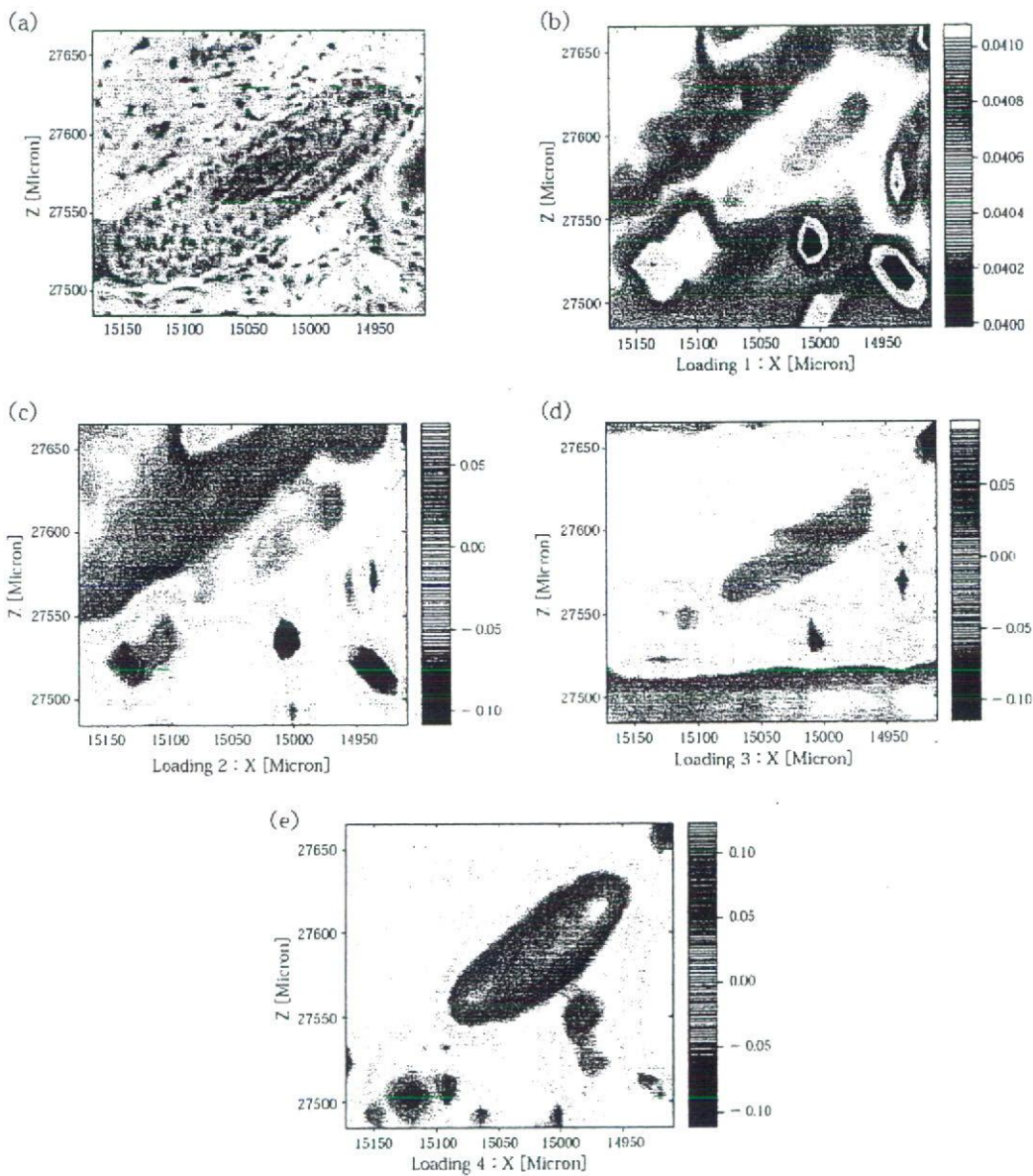


図4 (a) 可視画像 (b) Loading 1 Plot (c) Loading 2 Plot (d) Loading 3 Plot (e) Loading 4 Plot

※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。本單元では、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。

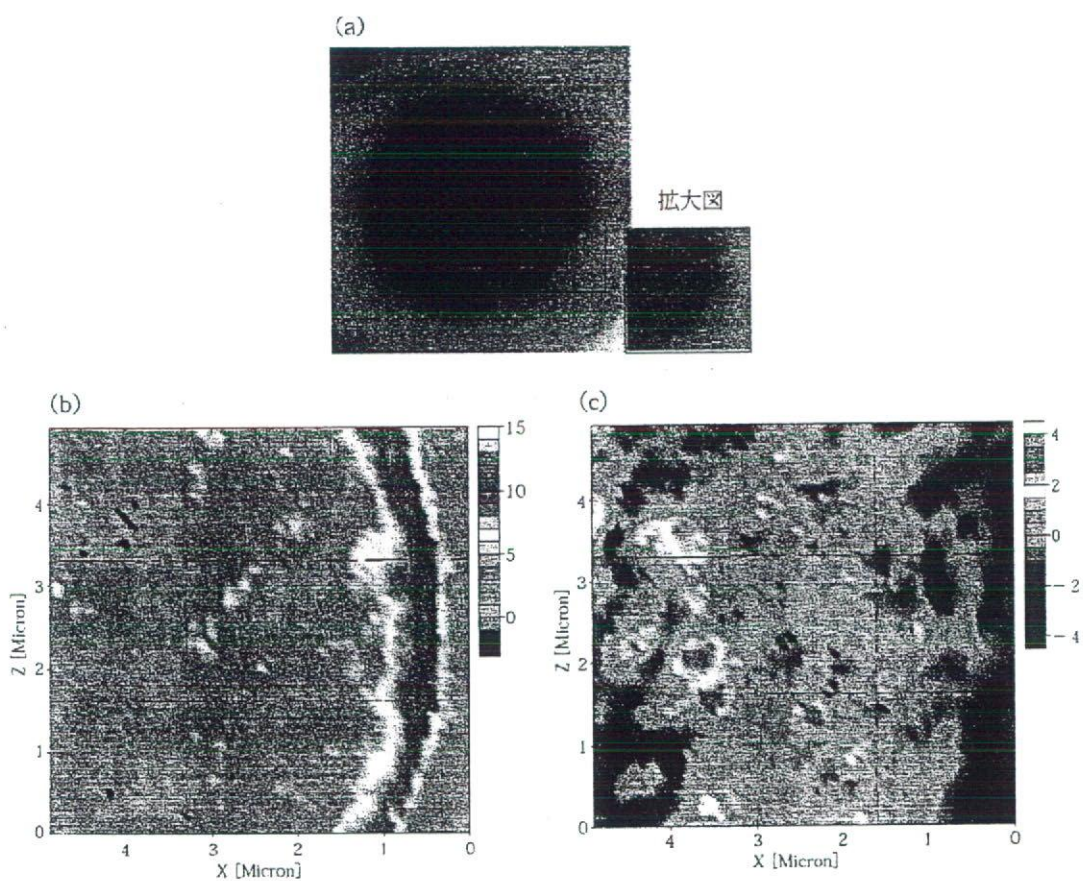


図5 (a) 錠削可視画像 (b)  $\int 3000-3500\text{cm}^{-1}$  でマッピング (c)  $\int 1500-1600\text{cm}^{-1}$  の積分値でマッピング

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



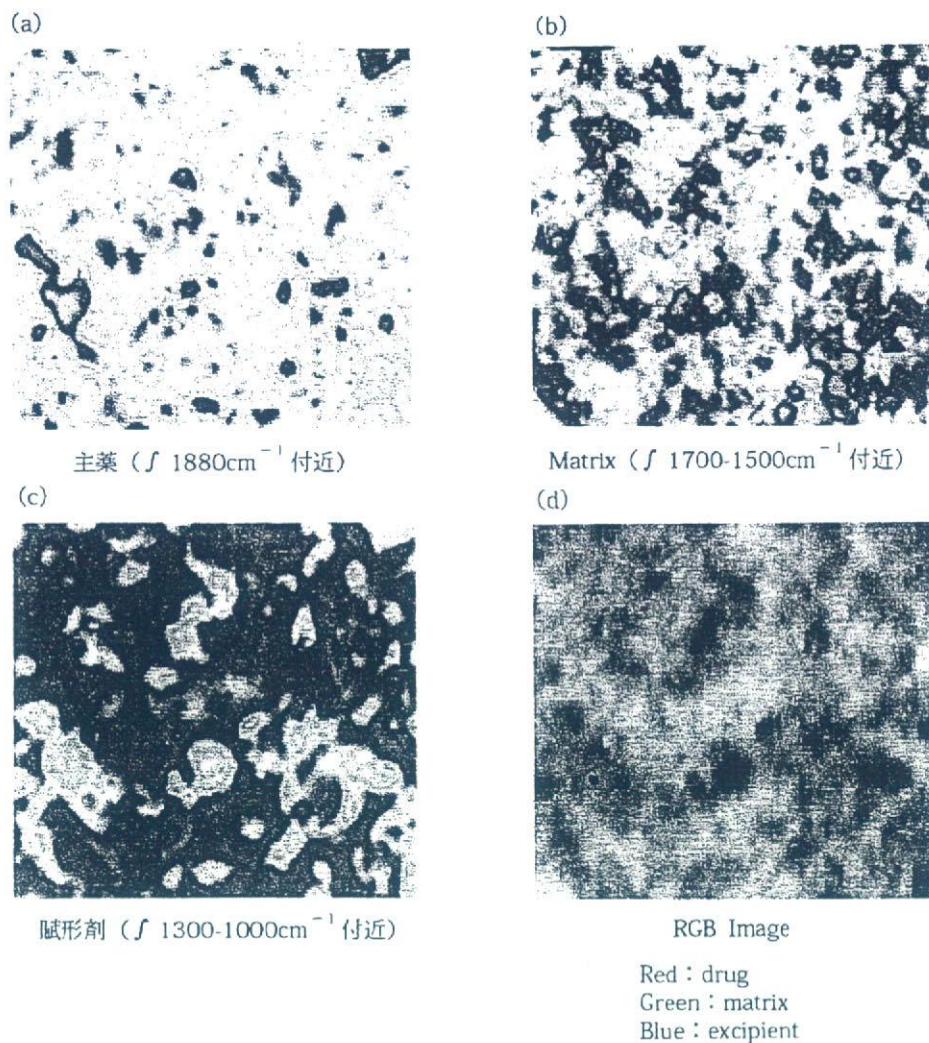


図6 (a) 主薬のマッピング ( $f$  1880 $\text{cm}^{-1}$  付近) (b) Matrix ( $f$  1700-1500 $\text{cm}^{-1}$  付近)  
(c) 賦形剤 ( $f$  1300-1000 $\text{cm}^{-1}$  付近)  
(d) RGB イメージング (Red, 主薬; 緑, Matrix; 青, 賦形剤)

※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・オプ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。

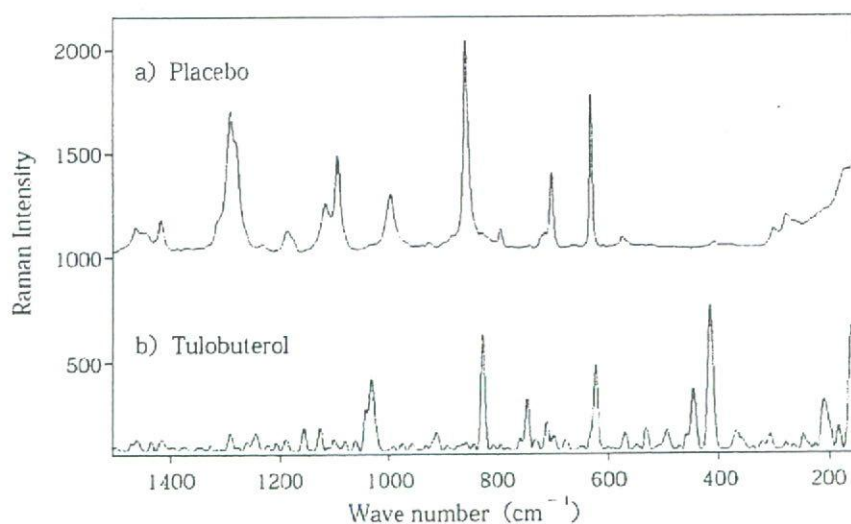
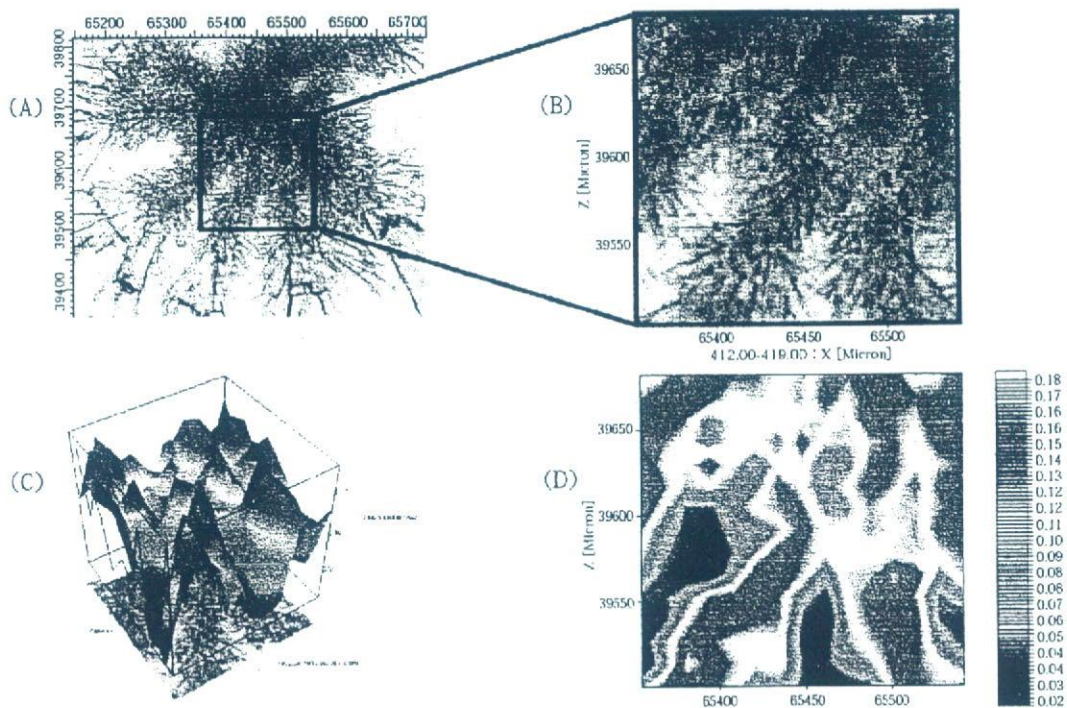


図7 プラセボ (a) と TBR 標準物質 (b) のラマンスペクトル



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)

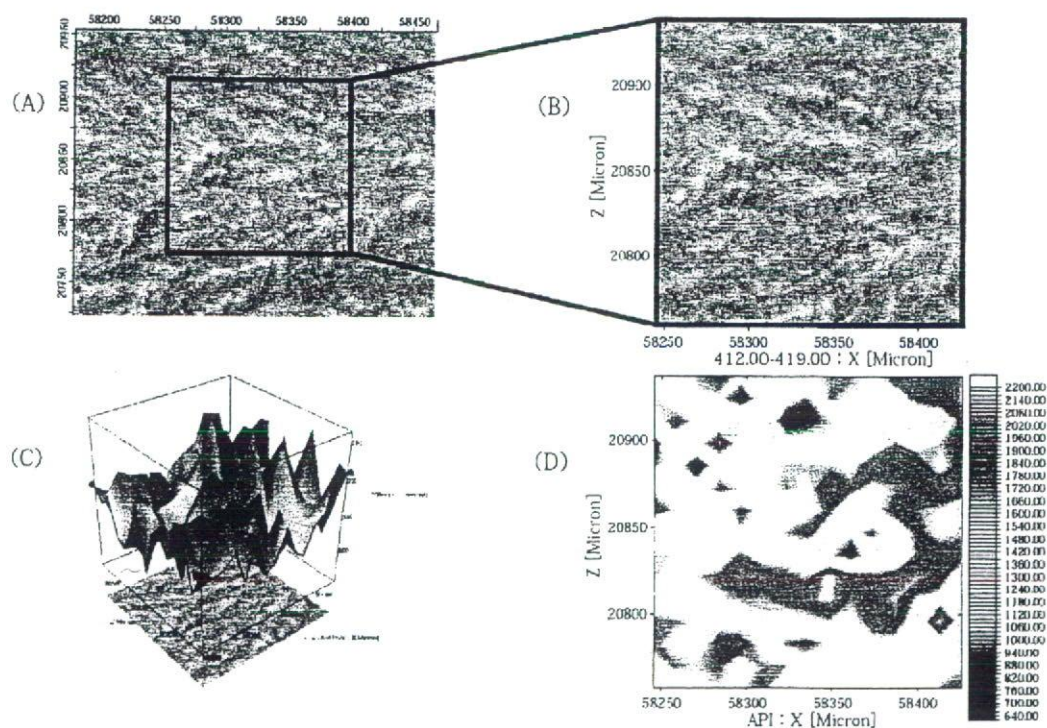
図 8 モデルテープ (アクリル系, A-20) から得られた光学顕微写真およびラマンケミカルマップ

※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。

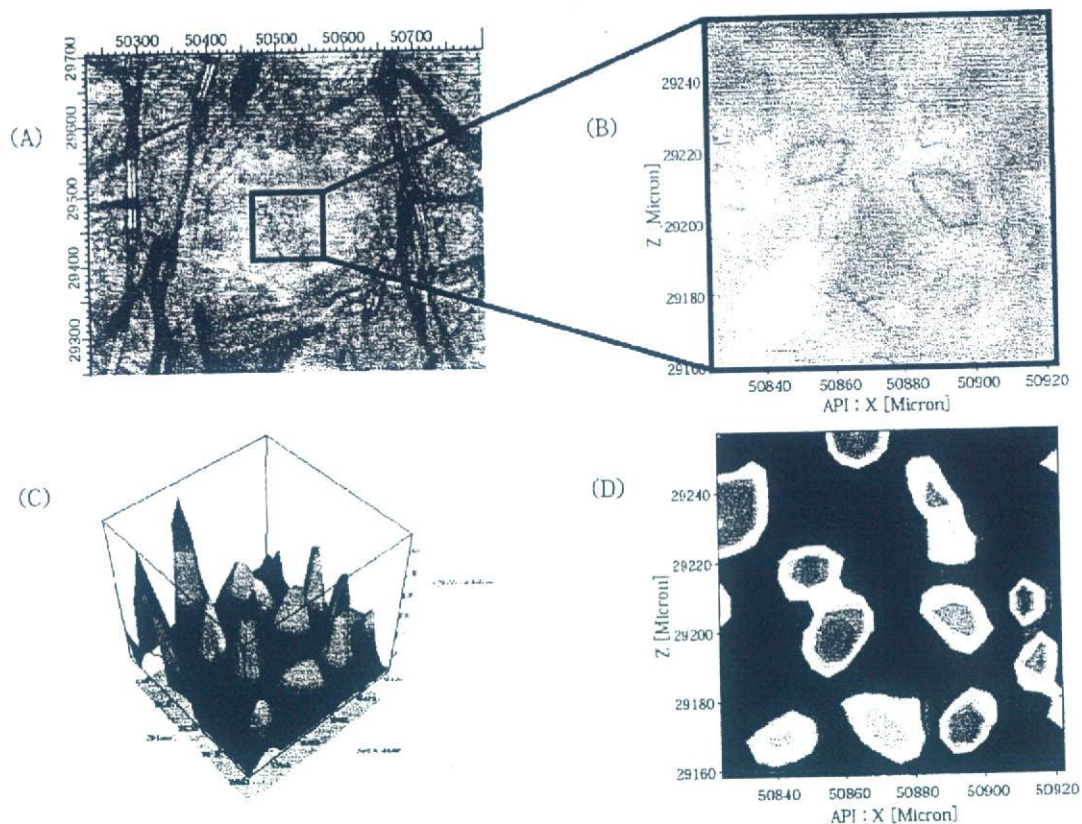


(A : 光学顕微写真 (600  $\mu\text{m}$   $\times$  500  $\mu\text{m}$ ), B : 拡大した領域 (200  $\mu\text{m}$   $\times$  200  $\mu\text{m}$ ),  
C : D に対応する 3D ラマンケミカルマップ, D : B に対応するラマンケミカルマップ)

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)

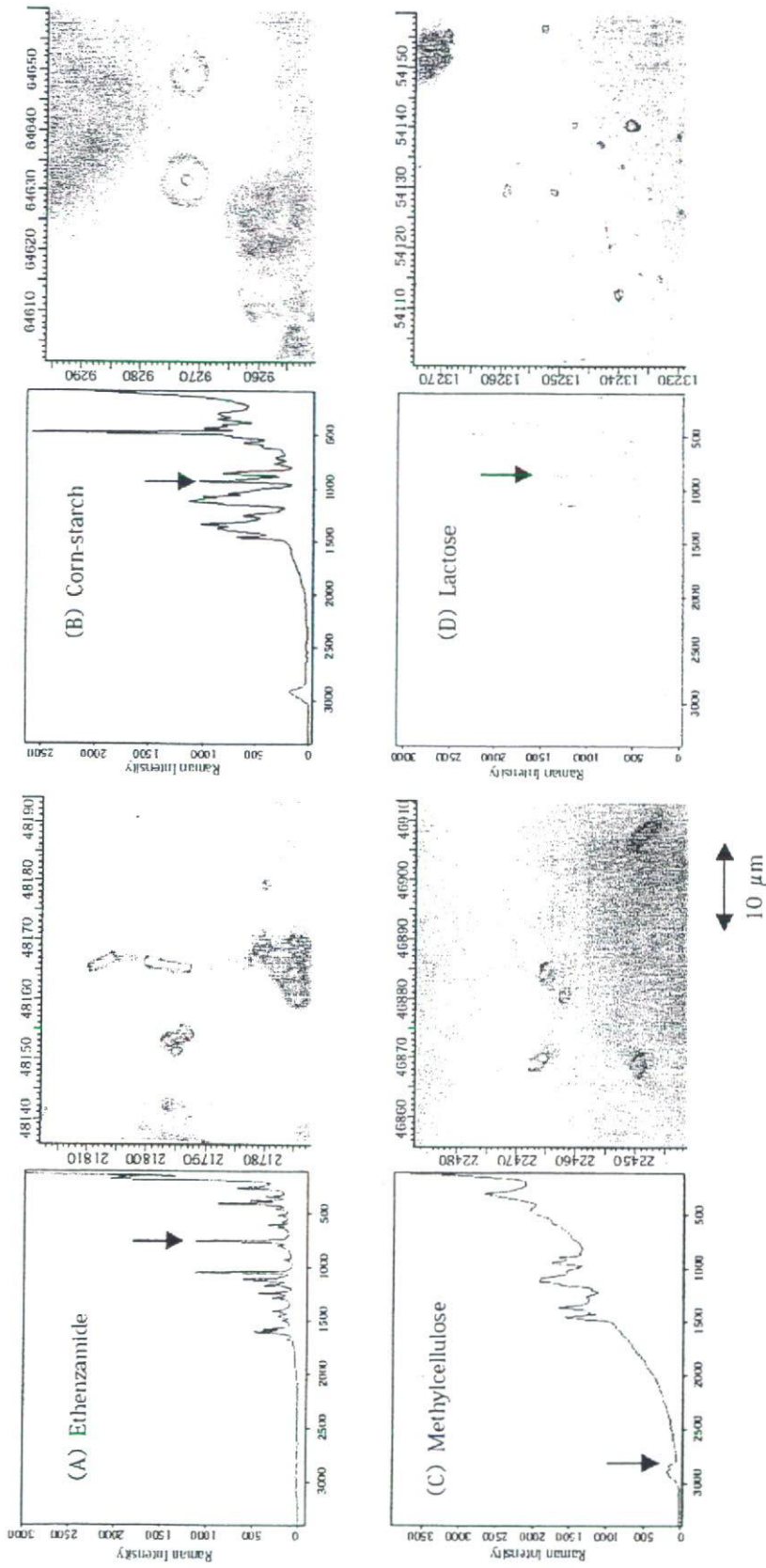
図 10 市販テープから得られた光学顕微写真とラマンケミカルマップ (2mg TBR in tape)

※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



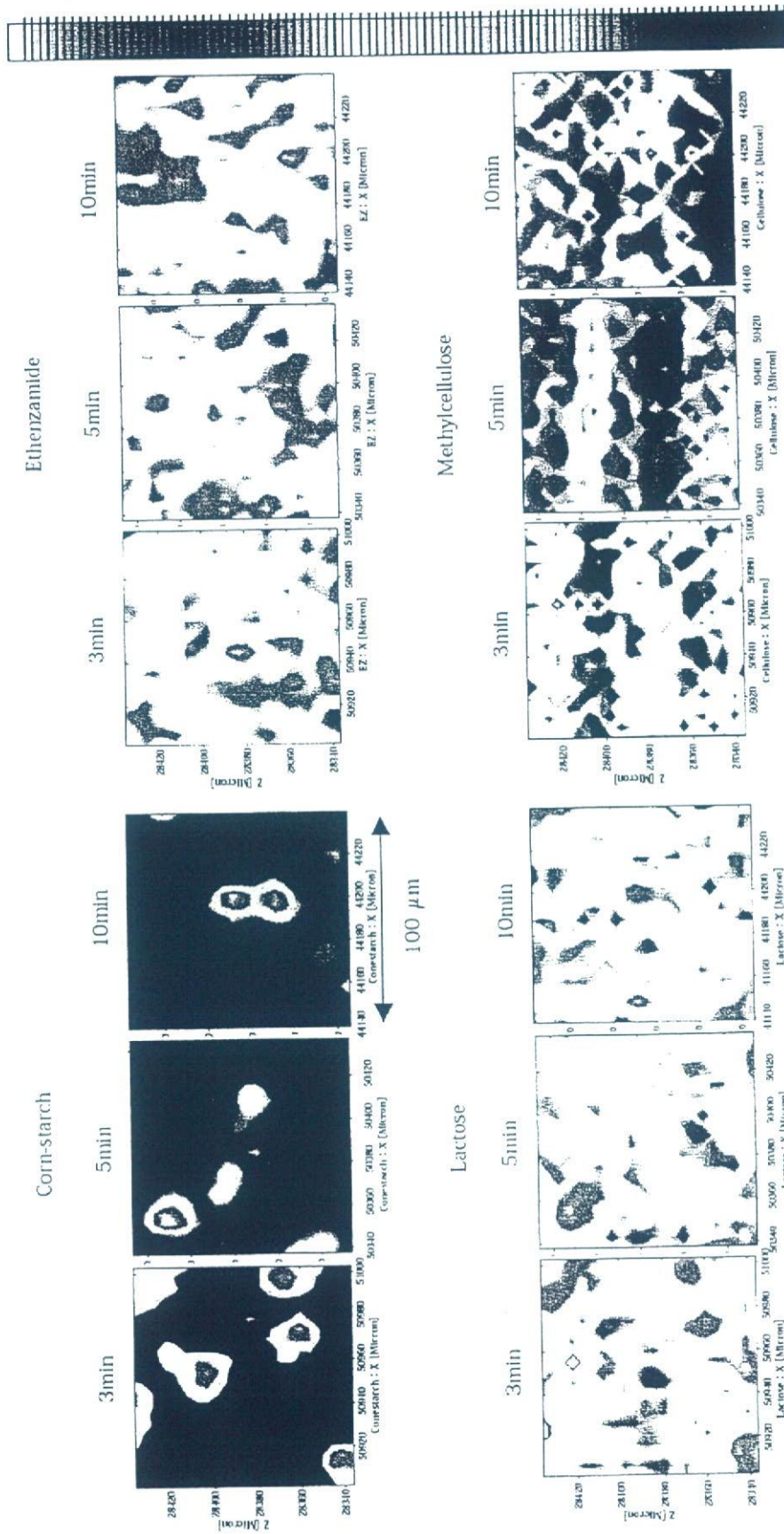


図 12 高速攪拌造粒により製した顆粒表面における各成分のラマンスペクトル  
(左から 3 分, 5 分, 10 分の造粒時間)

※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。



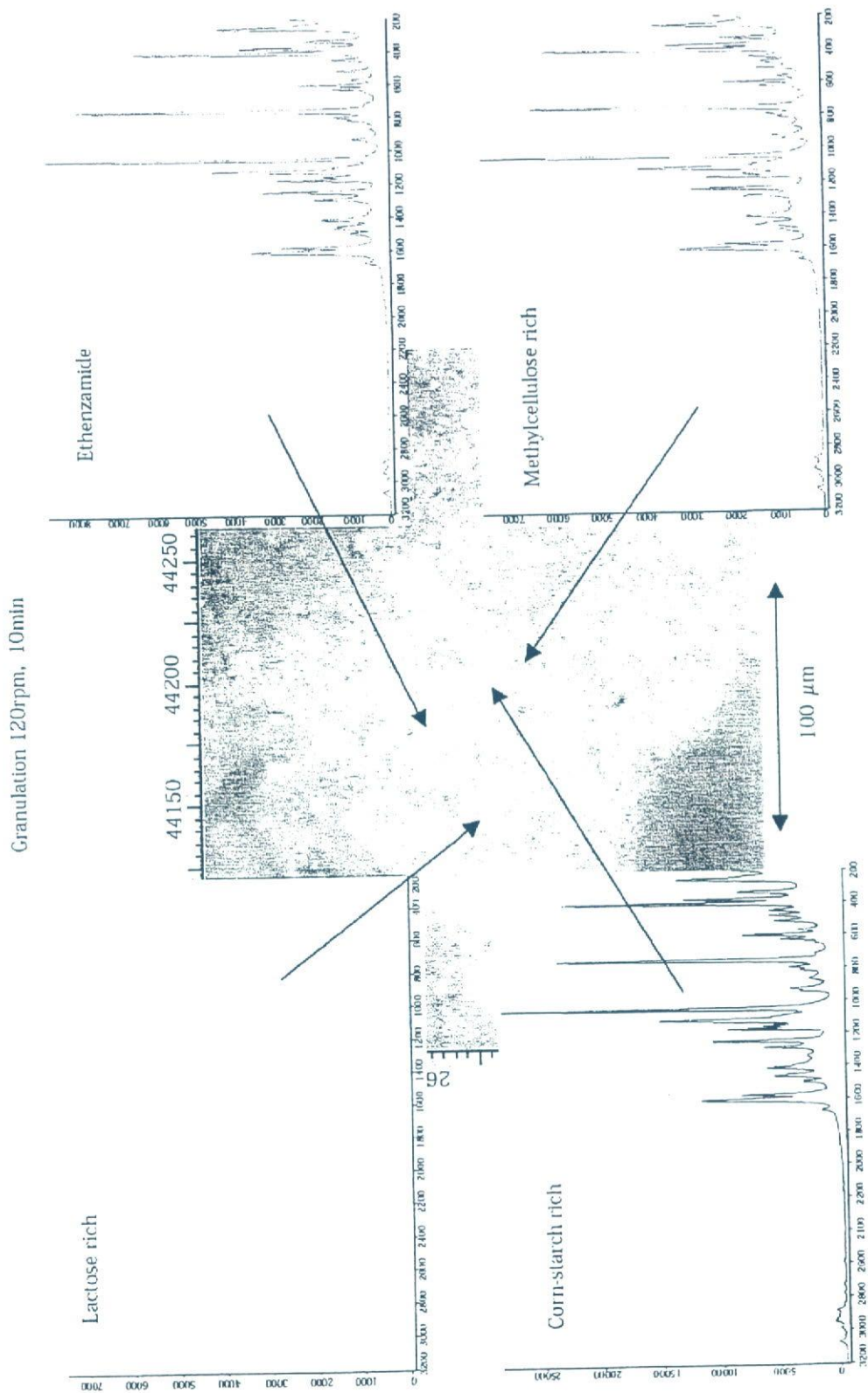


図 13 高速攪拌造粒 (120r.p.m, 10 分間) により得られた顆粒表面における各成分の光学顕微写真とラマンスペクトル

※カラーの図は巻頭ページ参照

## 文 献

- 1) Patrick Galidel AND Matttias Boese : Mid Infrared Microspectroscopic Mapping and Imaging : A Bio-Analytical Tool for Spatially and Chemically Resolved Tissue Characterization and Evaluation of Drug Permeation Within Tissues, MICROSCOPY RESEARCH AND TECHNIQUE 70 : 000-000 (2007)
- 2) 笹倉大督, Matttias Boese, 布村渉, 第 16 回 日本バイオイメーjing学会 要旨集, 2007. 11
- 3) ICH : ICH ガイダンス Q8, Pharmaceutical Development
- 4) 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 -, PHARMTECH JAPAN, 23 (11), 27-36 (2007)
- 5) R. B. Shah, M. A. Tawakkul, M. A. Khan, Process analytical technology : chemometric analysis of Raman and near infra-red spectroscopic data for predicting physical properties of extended release matrix tablets, *J. Pharm. Sci.*, 96 (5), 1356-1365 (2007)
- 6) 寺下敬次郎, 古川剛志, 久保浩史, 落合周吉, リアルタイムラマン測定及びラマンイメージングによる粉体混合プロセスの解析 - PAT を指向したラマン分光法 (1) -, *PHARMTECH JAPAN*, 23 (6), 87-96 (2007)



# Detection of Tulobuterol Crystal in Transdermal Tapes using Terahertz Pulsed Spectroscopy and Imaging

Tomoaki Sakamoto,<sup>1</sup> Alessia Portieri,<sup>2</sup> Philip F. Taday,<sup>2</sup> Daisuke Sasakura,<sup>3</sup> Takaaki Terahara,<sup>4</sup> Tsuyoshi Miura,<sup>3</sup> Naruhito Higo,<sup>4</sup> Donald D. Arnone,<sup>2</sup> Yukio Hiyama<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Division of Drugs, National Institute of Health Sciences, <sup>2</sup>TeraView Limited, <sup>3</sup>Bruker Optics K.K., <sup>4</sup>TDDS research laboratory, Hisamitsu Pharmaceutical Co. Inc.

**Abstract**— Applicability of the terahertz pulsed spectroscopy (TPS) and the terahertz pulsed imaging (TPI) to detect tulobuterol (TBR) crystal in transdermal tape has been investigated. The TBR crystal was identified by comparison between spectrum of tapes and TBR reference standard. The TBR crystal in patch matrix was successfully detected by the TPS and TPI. These results indicate that the TPS and TPI are applicable to identify an active substance in patch matrix for quality control.

## I. INTRODUCTION

Tulobuterol (TBR) transdermal tapes are used to cure bronchial asthma as a bronchodilator ( $\beta_2$ -blocker). TBR is one of the most suitable compounds for systemic transdermal formulation because it has very high permeability into keratin layer. The release rate of TBR from the matrix is controlled by the formation of crystals of TBR. For this reason, the chemical state of TBR in matrix is an important factor to assure the quality of this tape. Recently, the THz technology has been applied in pharmaceutical industrial field. Optical-delay analysis using THz pulse is also possible to measure the thickness of the layer of a sample that has multi-layers structure by using the time delay of THz pulse. These advantages of this technology have been applied to acquire depth chemical image of layers in the multilayer tablets, and to measure a coating film thickness in coated tablets. This study deals with an applicability of the THz spectroscopy (TPS) and imaging (TPI) for detection of TBR crystals in transdermal tapes.

## II. PROCEDURE

The model tapes that contain 0w/w% (placebo, A-0), 10w/w% (A-10), 20w/w% (A-20) or 30w/w% (A-30) of TBR were prepared. The TPI 1000 system (TeraView Ltd., Cambridge, UK) has been used for the measurements. Terahertz maps were obtained by raster scanning the terahertz beam across the sample, which was mounted at the focus position. The scanned area which corresponds to 120 x 120 pixels at 100 $\mu$ m of spatial resolution was 12mm x 12mm. The total measurement time was approximately 30 min.

## III. RESULTS AND DISCUSSION

### A. THz pulsed spectrum of TBR obtained from TPS instrument

Fourier-transformed THz waveform of TBR tablet was observed compared with that of the polyethylene reference (Fig. 1). It seemed that unique absorbance range, from 35 $\text{cm}^{-1}$  to 70 $\text{cm}^{-1}$ , is available to detect TBR absorbance from total waveform of tapes specifically.

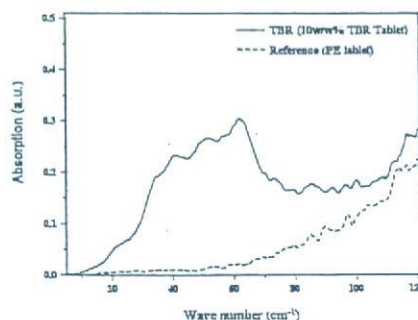


Fig. 1 Typical Fourier-transformed THz waveforms of the TBR tablet (solid line) and the PE tablet (reference, broken line)

### B. Fourier transformed spectrum of placebo model tape and TBR model tape

The THz pulsed waveforms obtained from the A-0 and A-20 are shown in Fig. 2. The absorbance that would be specific waveform of TBR from 45 $\text{cm}^{-1}$  to 70 $\text{cm}^{-1}$  was observed from waveform of sample.

### C. Detectability of TBR in crystal area and outside crystal area in matrix

The THz image of A-20 in 12mm x 12mm of area is shown in Fig. 3 (A). The aggregation of TBR crystal that is pointed by arrow in matrix was clearly identified. Fig. 3 (B) shows the waveforms obtained from model tapes. The characteristic



absorption of TBR that was shown inside range between two broken lines, from  $45\text{cm}^{-1}$  to  $60\text{cm}^{-1}$  was detected from the pixels that were located not only inside crystal but also outside crystal. This observation suggested that the TBR also existed at the outside of crystal in matrix.

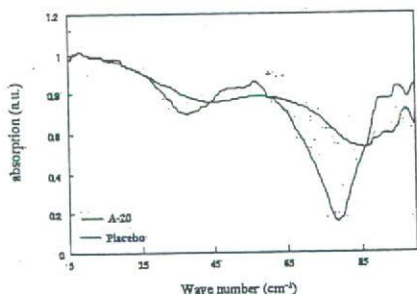


Fig. 2 Typical Fourier-transformed THz waveforms of the model tape (A-20, blue line) and the placebo model tape (A-0, red line)

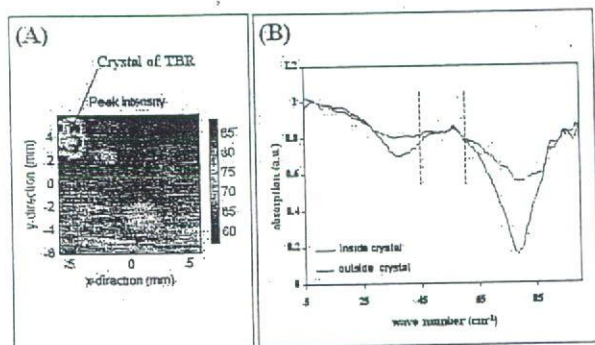


Fig. 3 Typical THz image and Fourier-transformed THz waveforms of the model tape (Blue line: inside crystal. Red line: outside crystal)

#### D. Crystal size of TBR in matrix

The THz image obtained from the A-30 is shown in Fig. 4. Several sizes of TBR crystal lump were observed in two scanned areas. The size of observed crystals was from 0.5mm to 3mm in longer diameters and from 0.1mm to 0.2mm in shorter diameters.

#### E. Detection of TBR crystal using refractive index

Despite the THz image of the TBR crystal was clearly identified in the acrylic matrix, it was difficult to detect the unique absorption of TBR was observed (Fig. 5 (A), (B)). This phenomenon was presumably because characteristic waveform of TBR became broad by oscillation generated when measuring a sample using quartz. The depth THz imaging in the area where the crystal was observed showed the change in thickness of the tape in the sight (Fig. 5 (C)). This result suggests that the change in the thickness of the tape by the existence of the crystal is detected by refracting the terahertz pulsed laser light from this on the edge of the crystal. Therefore the crystal of TBR in

matrix could be detected as the image by the contrast of the refractive index.

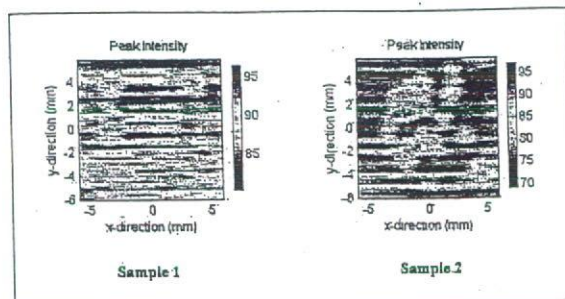


Fig. 4 The THz pulsed Images obtained from the A-30s

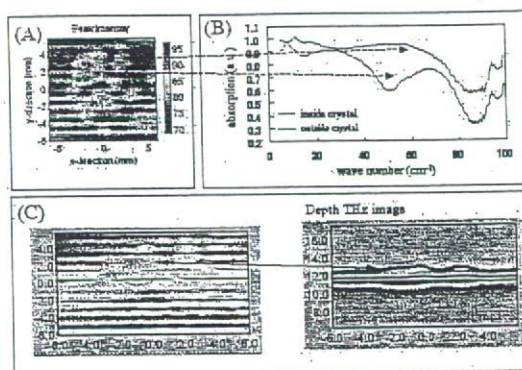


Fig. 5 The THz pulsed images (A), the Fourier-transformed waveforms (B) and the depth THz image obtained from the A-30

## IV. CONCLUSIONS

It was shown that the TPI and TPS technology was useful for the detection of the crystal of an active substance in transdermal tapes. A depth image that could be obtained from pharmaceutical sample would be very useful to understand quality of pharmaceuticals profoundly. Although approximately  $100\mu\text{m}$  of spatial resolution in the THz pulsed image would be hinder to detect minute particles that are smaller than the spatial resolution, reflective index of the THz pulsed wave may provide other useful information. This technology has good advantage as an analytical tool for not only pharmaceutical quality analysis but also process control in pharmaceutical manufacturing.

#### Acknowledgement

This study was supported by a research grant of Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan.