

長々と申し上げてきましたけれども、最後、何枚かのスライドでまとめたいと思います。品質保証の技術的な3本柱というのをお話いたしました。

スライド49をご覧ください。

それから製剤開発研究の文書、これは新薬だけではなくてすべての製品に関して重要であるということを申し上げました。承認書の機能ということもお話いたしました。

スライド50、51をご覧ください。

このスライドは、従来の情報の流れで問題があったということを申し上げたのですけれども、現在では、ICH-Q8によって製造法の妥当性というのが示されるようになった。それから審査官から見ると、審査官が直接見るわけではないのですが、審査段階で、GMPでどういうことがされるかということが承認前の査察で見ることが可能になった。それからICHのQ10のことでありますけれども、企業の中での知識の共有化が非常に重要であるということを認識されました。これは企業の中での情報の流れを整理していくためには、非常に重要な概念、或いはシステムであろうというふうに考えられます。

スライド52をご覧ください。

これが最後のスライドです。

殆ど質問の時間を使って来ていると思いますが、研究班或いはICHの活動からのお願いです。上の二つ、改正薬事法、ICHQ8パラダイムにおけるCTDのモックを作成しております。これはデザインスペース、リアルタイムリリース等を入れた、いわゆるエンハンスドアプローチ（Enhanced approach）のものでありますが、このモックを作成したところであります。モック案ができたところであります。それから、もうひとつは、改正薬事法下での

スライド52

* 研究班・ICH活動からのお願い

- 改正薬事法・ICHQ8 パラダイムにおけるCTDモックの作成
Enhanced approach (デザインスペース、リアルタイムリリース)
製剤開発P2、P3、P5 リスクアセスメント
 - 改正薬事法下 変更管理システムガイドライン作成
GMP対象、製造販売との関係、追加試験
以上 2点 国立衛生研 薬品部HPに掲載し意見募集予定
 - ICH Q8、Q9、Q10 IWG (implementation working group)
QA 作成、事例引用
Knowledge management
Design space, Real time release, Control Strategy
Pharmaceutical Quality System, Inspection, Inspector-Reviewer
Collaboration
- Email hiyama@nihs.go.jp

変更管理のシステムガイドラインを作成いたしました。これにはGMPのことだけではなく、製造販売との関係であるとか、変更における追加試験のことにも言及しております。

以上2点、衛研の医薬品部のホームページに掲載いたします。近々掲載いたしますので、ご意見をお願いしたいと思います。

もうひとつ、ICHのインプリメンテーション（Implementation group）、これはQ8からQ10までの導入に関するグループでありますけれども、Question/Answer等事例などを引用していくということをやるのです。この中で下に3点ほど述べてあります。ナリッジマネジメント（Knowledge management）、それからデザインスペース等のいわゆるエンハンスドアプローチのこと、それから品質システムのこと、査察、査察官・審査官のコラボレーションというのがありますが、こういったことに関して意見を、企業の皆さんですから、製薬企業の方に言って頂きたいと思います。特に、ナリッジマネジメントは日本の担当ということで作業を開始したところであります。

以上、ずいぶん長くお話しいたしましたけれども、どうもご静聴有難うございました。

（質問）

貴重なご講演、どうも有難うございました。

最後のスライドを見せて頂いておりますQ8、9、10のトリオに関して、今のハーモナイズということで、品質GMPに関してハーモナイズが加速的に進んでいると思うのですが、その中で、若干、議論から外れるかも分りませんが、局方品のハーモナイズにつきまして、以外と進んでおられないように、個人的に思うのですが、私たちワールドワイドに展開する場合に海外の方からお聞きする場合は、USPとEPには開発当時からかなり頭に入れるけれどもJPに関してはあまり頭に入っていないようなことを度々聞きます。その中で、どうしても最終的にはJPに合わすような形で日本に入る場合、そこが非常にネックになる可能性があります。

と申しますのは、日本の承認書の書き方の中で、成分、分量については、日局の成分については、原則、日局であるべしというようなところがありますので、そこに対してどうしても日局に合わせなければいけないというようなことなので、そういったことから三極の局方品のハーモナイズというのは、今どういう状況で、どうなっているのか、ご意見をお聞かせ願いたいと思います。

（回答）

ご質問有難うございました。

それに関しては、特に添加剤のハーモナイズですね。これは恐らく中垣課長あたりに、今日、お聞きになるのが一番だと思いますけど、局方のPDGというハーモナイズのグループがありまして、そこで非常に、進んでいる、見方がありますけれども、進んでいるかと言われますとイエスでありますし、全体から見てどれくらい進んでいるかと言われると、それは首を傾げるかもしれませんけれども、とにかく進んでいるのは確かです。

今、仰られた相互に認めるかどうかというのは別の判断だと思いますけど、ICHと同時

にというより同じ場所で必ず局方のハーモナイゼーションの議論が先週もありました。そこで進んでおります。

もっと進めてほしいとか、やり方を変えてほしいという話は、課長の方に言って頂ければと思います。

（本稿は、当協会が平成20年6月13日（金）にホテル阪急インターナショナルにおいて開催した「東西合同薬事法規（研究）委員会」における特別講演講師の講演要旨である。）

開発段階の品質管理と治験薬GMP

Pharmaceutical Development and Investigational Product GMP

国立医薬品食品衛生研究所 薬品部

檜山行雄

YUKIO HIYAMA

National Institute of Health Sciences

はじめに

マイクロドーズ臨床試験を含む前期探索的臨床試験を推進していくことが、わが国における医薬品開発をより効率よく進められるという認識から「我が国における探索的臨床試験等のあり方に関する研究」をテーマとする厚生労働科学研究班(主任研究者大野泰雄)¹⁾が2006年12月28日に立ち上げられた。この研究班の1年半の検討を基礎としてマイクロドーズ臨床試験指針²⁾が発行され、また治験薬GMPが改訂³⁾された。本稿では、研究開発段階(化学薬品)における品質管理の課題および治験薬の役割を概観し、治験薬GMPの改訂の主な論点を解説する。

なお、研究班における詳細な検討経緯は分担研究報告書⁴⁾、また古田土真一氏の解説記事⁵⁾を参照されたい。

1 開発過程における品質管理の要点

新医薬品の開発過程を図1(化学薬品と限定)に示す。ここで各段階における被験物質とそれらに求められるもの(品質管理の要点)に注目する(図2)。言うまでもなく、すべての段階においてそれぞれの試験の成立・保証が品質管理の目的の1つである。前臨床段階においては動物による安全性試験を実施し、開発候補品が臨床試験に進めるかどうかの決定がゴールとなる。被験物質に求められることとしては、安全性試験の保証とトキシコキネテ

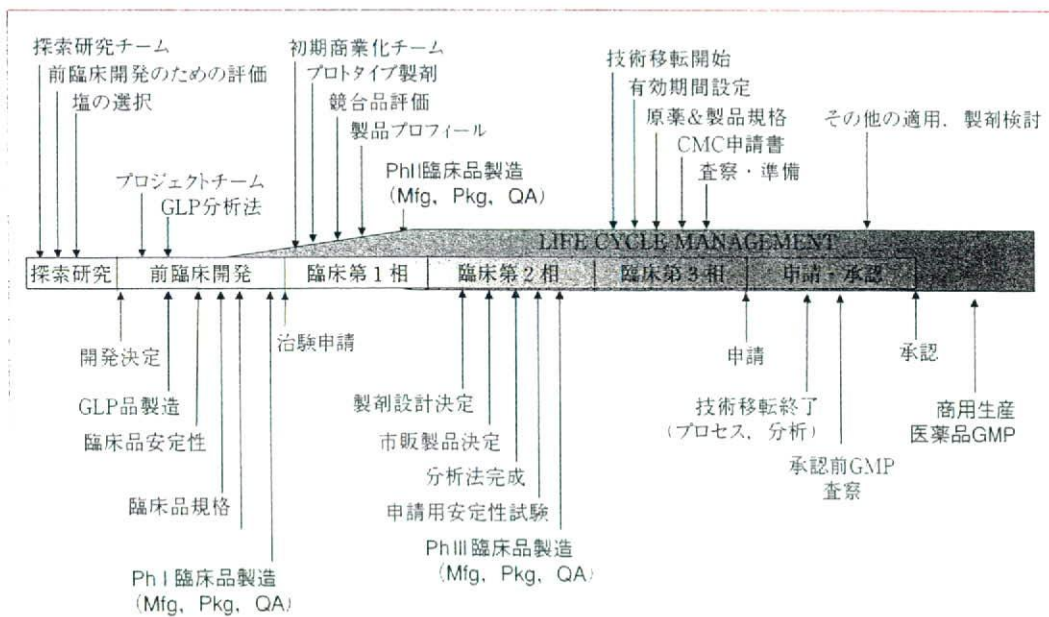


図1 医薬品の開発における製品開発過程(化学薬品)

*本稿は、2008年11月26日開催のAPDDシンポジウムおよび同年12月12日開催の日本薬学会レギュラトリーサイエンス部会主催シンポジウムにおける筆者の講演をもとにまとめ直したものである。

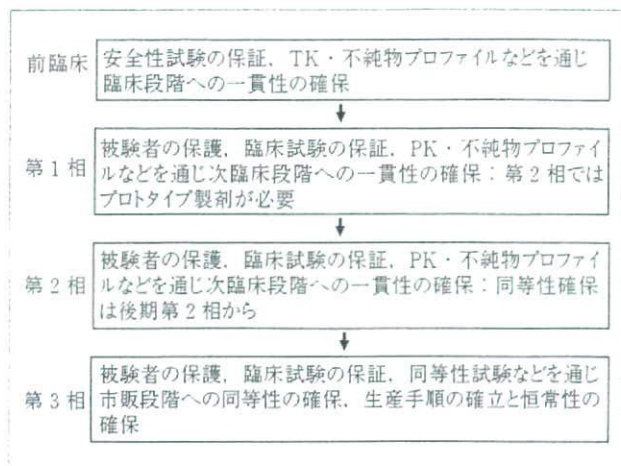


図2 開発段階における品質管理の課題の流れ

イクス、不純物プロファイルなどを通じた臨床段階への一貫性がある。臨床第1相に用いる被験物質(これ以後治験薬)に対してはGMPのルールが適用され始め、被験者の保護が品質管理の重要な目的として加わる。この段階ではカプセル入りの原薬など簡単な剤形が用いられることが多いものの、ファーマコキネティクス、不純物プロファイルデータをもとにした吸収性・安全性に関して、第2相試験に用いられる想定製剤への一貫性が求められる。第2相試験においては市販製剤を目指して、有効性および用量を決めるため、製剤処方はもとより製造法の骨格や分析法がほぼ確定される。したがって、この段階以後に用いられる治験薬から市販製剤には一貫性以上の同等性が求められる。臨床第3相試験においては市販製剤への同等性を求められるのは当然である以上に、製造法も市販製造を反映したものとなることが求められる。余談かもしれないが、欧米の製薬企業は第3相用の治験薬を工場の生産ラインで製造を行うことが多いのに対し、日本の企業はそのようなケースは少ないように思われる。これには、第3相の臨床試験の規模、市販への自信・コミットメント、審査における同等性説明の難易度などが関係しているものと思われる。

ICHガイドラインは申請資料作成のためのものであり、開発段階のどこで何をしなければならないということを指示するものではない。したがって、例えば、治験薬の不純物プロファイルはICHのQ3A、Q3Bに示された安全性の確認(Qualification)の考え方に沿い、各開発者の責任下により管理されているのが現実である。また、開発過程における基準を規定することは、柔軟性を失わせることが懸念され、望まれてはいないようだ。

2 治験薬GMP改訂の経緯および要点

研究班の組織としては、日薬連のGMP委員会(現品質委員会)において治験薬GMPの業界案をまとめられていた古田土真一氏、マイクロドーズ臨床試験の専門家である武田薬品工業の残華淳彦氏、理化学研究所の矢野恒夫氏、製薬協のICH担当である松木滋氏、またGMPの専門家である医薬品医療機器総合機構の清原孝雄氏に協力者として研究班に入っていた。

研究班の初期の議論(2007年1月:図3)において、治験段階の品質管理は治験段階の必要に応じて行うべきであると結論した。したがって、旧治験薬GMPの通知は治験の前半に関しては過剰な要求をする一方、後期に対しては不十分などところがあるという認識であった。治験段階に応じた要件を整理したうえで何らかの治験薬GMPに関する指針を作り、その後にマイクロドーズ臨床試験など前期探索的臨床試験における指針を同時に作るという計画であった。しかし、研究班全体として、「前期探索的臨床試験も治験として行うべきである」という方針が示され、GMPに関する指針は一本で書くことになった。また、指針を作成するうえでは、国際調和も重要な要素としてとらえた。

図4にWHOのヒト用治験薬ガイドラインおよび旧治験薬GMP通知にある原則を転記した。WHOガイドラインには4点あり、1点目が治験の信頼性を保証すること、2点目が開発段階の製品と将来の市販品との一貫性を保証すること、3点目が被験者を守ること、4点目に文書化があげられている。一方、平成9年5月に監視指導課長通知の中には3点あげられている。1点目は臨床試験の信頼性の確保、2点目は治験薬と市販後の製品の同一

要旨

(あるべき姿)

治験段階の品質管理(治験薬GMP)は治験段階の必要に応じて行うべきである

(現状)

治験薬GMP通知は前期治験に対し過剰な要求をする一方、後期治験に対しては不十分などところがある

(課題)

治験段階に応じた要件の整理をした上で指針を作成する

MD、eINDのための指針は治験薬GMPのAnnexとする(？)

国際調和を考慮すべき

治験薬GMPの改訂は早急に実施すべきである(別の作業班？)

図3 治験薬GMPについて—あるべき姿、現状と課題—
2007年1月22日、大野班班会議資料

WHO-GMP/ヒト用治験薬ガイドライン(2.General Considerations)

- ・開発段階の製品のバッチ内およびバッチ間の一貫性を保証し、治験の信頼性を保証すること
- ・開発段階の製品と将来の市販製品との一貫性を保証することにより、市販製品の有効性と安全性に対する治験の適切性を保証すること
- ・製造上の過誤(滅菌などの重要工程の省略、汚染及び交叉汚染、混同、誤表示等)、あるいは不十分な品質の原料や成分に起因する品質劣化製品から被験者を守ること
- ・製造工程におけるすべての変更を文書化すること

平成9年5月20日付薬監第70号より

- ア 治験薬の品質の均一性を保証することで、臨床試験の信頼性を確保すること
- イ 治験薬と市販後製品の同一性を保証することで、製品の有効性と安全性を確保すること
- ウ 治験薬の品質を確保することで、不良な治験薬から被験者を保護すること

図4 治験薬GMPの一般原則

性を保証すること、3点目に被験者を保護すること、である。2点目の同一性を保証するという事は開発の最終段階では実現可能であろうが、開発初期には無理な要求であり、誤解を招く記述ではなかったろうか。

いずれにせよ大きく分け、被験者の保護、治験そのものの保証、将来の製品に対するつながり一貫性(後期は同等性)の3点が原則になると考察した。WHOガイドラインにある文書化はこの3つの原則目的を保証するための手段であろうと考えた。

3点の原則、被験者の保護、治験の保証、市販製剤への一貫性を開発段階ごとにどれくらい必要かを図5に示す。3点ともそれぞれの段階において必須であり、その強弱はないと考えた。ただ、市販製剤への一貫性というものを考えると、開発後半では同等性なり、場合により同一性が必要ではあるが、第1相で同一性が必要かという点、同じ処方を使うことはほとんどなく、しかし、つながりが必要であると結論した。これは本稿前半で記述したような開発段階を精査したうえでの結論であった。さらに第1相試験の前に行うマイクロドーズ臨床試験などの前期探索的試験に関しては、一貫性も必要なのかという疑問も出てくる。前期探索的臨床試験の目的は開発候補品を選ぶことであるからである。そこで使われる治験薬で得られたデータをもとにして、製剤に関して、その上に積み上げということはなされないからである。

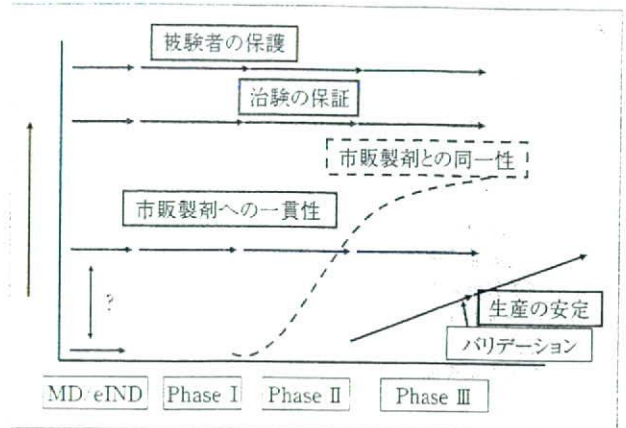


図5 開発段階に応じた各原則の適用レベル

3 3極の現状

2007年1月現在の治験薬GMPについてのICHの3極の現状を図6に示す。日本においては10年ほど前に出された480号の局長通知が有効となっている。EUでは、EU GMPのAnnex 13として治験薬GMPが明記されている。米国の状況というのは2年ほど前に第1相試験のみの治験薬製造であれば、米国のGMPのCFR(省令レベル)適用免除とする案が出された。いずれにせよ治験薬に関するGMPは市販後のもののGMPとは同一には扱えないという認識が世界的にある。

【日本】

治験薬が薬事法上の医薬品に該当しないこと、新GCP基準に謳われたことより、平成9年(1997年)の厚生省薬務局長通知「薬発第480号(治験薬GMP)」として発出、要件化
 ⇒治験段階すべて同じルール(eg バリデーションを要求)、改正
 医薬品GMP省令との不整合、国際調和の観点から陳腐化。初期治験には過剰である一方、後期には不十分
 ⇒改正治験薬GMP(業界案)が提出されている

【EU】

EU-GMPのAnnex 13として治験薬GMPとしての要件を明記(EU-GMP本文に代替するものではなく、治験薬製造に関する特別な事項を上乗せ補充)
 ⇒Directive 2001/20/EC(GCP規則)の2004年施行に伴い、治験薬製造であっても製造許可と管理を義務付け
 ⇒第三国(日本を含む)からの輸入治験薬についてはQualified Personの保証が必要

【米国】

治験薬であっても、原則的に医薬品のcGMPをそのまま適用
 ⇒2006年1月に、Phase Iのみの治験薬製造であれば21 CFR 210 & 211(cGMPを記した法律)を適用免除としたFederal Registerを発出したが、反対意見も出たため検討中
 ⇒Phase I 治験薬製造に対する21 CFR 210 & 211の適用免除の穴埋めとして、「Phase I 用cGMPガイダンス(案)」を発表したが、まだファイナル版に至っていない

図6 “治験薬GMP”の3極現状(2007.1現在)

- ◆ 現行の治験薬GMPの運用において現実に企業が直面している課題として
 - ✓ 日欧米それぞれの治験に対応させた治験薬GMP対応への無駄な労力の回避
 - ⇒ 現在はダブルスタンダード、トリプルスタンダードによる運用
 - ✓ 日本固有の治験薬GMPの特異性の回避
 - ・ 治験薬GMP三役と出荷承認システム
 - ・ 治験薬製品標準書
 - ・ 治験薬製造管理基準書などの特定名称の基準書
 - ✓ 輸入対照薬およびそのプラセボの調達の困難性と曖昧な規定の明確化
 - ⇒ 日本国内企業間では紳士協定に基づく暗黙の了解による対応
 - ✓ 不明瞭なバリテーションの要件に対する明確化
 - ⇒ ベリフィケーションの概念がない
 - ✓ 開発段階による差や医薬品GMPとの差に対する明確化
 - ⇒ 現在は形式的な組織運営またはオーバーコントロールの画極端として実行



ICH/Q7Aの第19章のような医薬品のGMPの準用規定として、開発初期～中期にかけてはガイドライン対応とするのも一考

図7 (旧)治験薬GMPに対する企業の実務的な課題

図7は、2007年1月当時における、治験薬GMPに係わる企業の実務的な課題を示す。①国際調和の欠如により、二重三重の運用を強いられていること、②日本固有の治験薬GMPの特異的なところは、治験薬GMPの三役は役割が決まっていること、③バリテーションの要件があるものの、ベリフィケーションの概念がないこと、が運営の障害になっていると企業側の協力者からあげられた。また形式的な運営が行われたり、開発段階にメリハリをつけず画一的な運営が行われたり、企業により、いろいろ極端な運営がなされているという指摘もあった。

4 改訂治験薬GMPの要点

治験薬は薬事法上の医薬品には該当しないという原則論がある。したがって医薬品のGMPは自動的に適用外になる。そのために治験薬GMPはGCP省令の傘のもとに規定されているという状況にある。このことに関して議論もされた。欧米のように医薬品GMPに入れるほうがいいのではないかという意見が国内からはあった。しかし、先に述べた治験薬GMPの3つの原則目的を達成するうえで障害になるという説得力のある論はなかった。一方、治験薬GMP関連の改訂作業を行っている米国の担当者からは、「治験薬GMPが医薬品GMPの一部であるという法的な位置づけは、治験薬GMPの柔軟な運用を

治験薬は薬事法上、第80条の2第2項に示されるとおり医薬品ではなく「薬物」その製造管理及び品質管理については、医薬品のGMP省令ではなく、GCP省令第17条(企業主導の治験)及び第26条の3(医師主導の治験)の規定に基づくものマイクロドーズ臨床試験など早期探索的段階を含む臨床試験に使用する治験薬を想定し、「治験の特性を考慮し、治験の段階に応じた品質保証が可能」となるよう改正を行うもの

図8 治験薬GMPの改訂の基本点

- (主な課題1)
 - 開発の進展状況に関わらない一律的な要件
 - 開発初期においては過重
 - 開発後期においては医薬品GMPに比して不十分
 (改正のポイント)
 - 要件を一律的に規定することは困難であるため、開発に伴う段階的な状況やリスクを考慮して適切だと思われる要件については柔軟に運用することとしたこと
 - 製造施設の構造設備については、開発の進展状況を考慮しない一律な基準に代えて、構造設備として留意すべき点等について列記したこと
- (主な課題2)
 - 現行の医薬品GMP省令等との差違
 - 治験薬に係る各種管理者の設置規定がある
 - 治験薬品質管理者による出荷判定が規定されている
 - 変更および逸脱に係る規定がない
 - 文書および記録の保管期間がまちまち(3年保存、5年保存)
 (改正のポイント)
 - 各種管理者の設置規定に代えて、品質部門を主にした責任体制の構築を求めたこと
 - 品質部門の主たる責任業務として治験薬の出荷の管理を明確化したこと
 - 変更および逸脱に関する項目を追加したこと
 - 文書および記録の管理の期間について、GCP省令の規定(3年保存)と整合させたこと
 - これらの改訂の趣旨が明確になるよう、Q&A(未発出)を作成したこと

図9 平成9年治験薬GMPの主な課題と改訂のポイントについて

推進するためには障害となることもある。第1相臨床試験の治験薬には医薬品GMPのルールを適用しないという案を提示したところ、法律違反であるとの指摘もされた」という米国の課題を聞いた。法的位置づけまで変え、メリットの多くない調和はするべきでないとの結論を得、結論としては今の体制を存続させることとなった(図8)。

研究班に対し指摘された課題に対し、今回の改訂によってほとんどの点に関して対応が果たしたものと考えられる(図9)。また治験薬GMPの「3. 基本的な考え方 3.1」には「本基準が医薬品開発の重要な期間に対して適用されることから、製品ライフサイクルを見据えた品質マネジメントの一環として活用することが望ましい」とあるように「医薬品品質システム(ICH Q10ガイドライン)」も意識した改訂となっている。

話を戻すが、GMPの規則そのものでは品質管理の具体的手法を規定してはいない。例えば、原薬の不純物の上限はGMP規則に由来するものではなく、安全性の基準からくるものであり、品質管理の基準に取り入れたものである。今回の改訂作業に際し、治験薬GMP規則と具体的な品質管理の基準・手法を混同したうえでの意見を多く耳にした。治験薬GMPが厳しいと指摘された背景にはこのような混同が多くあったのではないかと推察する。

3つの原則を理解し、治験段階に応じた科学的な品質管理の手法を採用・対応できるような品質システムを組まれるように期待する。

■参考文献

- 1) 大野泰雄：「我が国における探索的臨床試験等のあり方に関する研究」厚生労働科学研究成果データベース (<http://mhlw-grants.niph.go.jp/>)
- 2) マイクロドーズ臨床試験の実施に関するガイダンス(平成20年6月3日、薬食審査発第0603001号)
- 3) 治験薬の製造管理、品質管理に関する基準(治験薬GMP)(平成20年7月9日、薬食発第0709002号)
- 4) 檜山行雄：「探索的臨床試験における被験物質の品質確保について—探索的臨床試験における品質保証の方針—」18年度報告「探索的臨床試験における被験物質の品質確保について—探索的臨床試験における品質管理手法及び治験薬GMPの改定への提案—」19年度報告 (<http://www.nihs.go.jp/drug/DrugDiv-J.html>)
- 5) 古田土真一：「治験薬GMPの改正ポイントについて」、PHARM TECH JAPAN, 24(5), 835-839(2008)

Division of Drugs¹, National Institute of Health Sciences; Bruker Optics K.K.², Tokyo; TDDS Laboratory³, Hisamitsu Pharmaceutical Co Inc, Ibaraki; Tokyo Metropolitan Industrial Technology Research Institute⁴, Tokyo, Japan

Chemical mapping of tulobuterol in transdermal tapes using Microscopic Laser Raman Spectroscopy

T. SAKAMOTO¹, T. MATSUBARA², D. SASAKURA², Y. TAKADA³, Y. FUJIMAKI⁴, K. AIDA³, T. MIURA², T. TERAHARA³, N. HIGO³, T. KAWANISHI¹, Y. HIYAMA¹

Received July 29, 2008, accepted August 5, 2008

Tomoaki Sakamoto, Ph.D., National Institute of Health Sciences, 1-18-1, Kami-yoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan
tsakamot@nihs.go.jp

Pharmazie 64: 166–171 (2009)

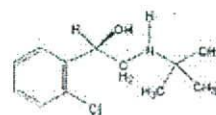
doi: 10.1691/ph.2008.8217

Microscopic Laser Raman Spectroscopy and Mapping (MLRSM) technique was used to investigate the distribution of tulobuterol (TBR) crystals in transdermal tapes. TBR is one of suitable compounds for the transdermal pharmaceuticals because it has high permeability into skin. In case of TBR transdermal tapes, some commercial products also contain TBR crystals in order to control a release rate from a matrix. Therefore, the presence of TBR crystals in the matrix is a critical factor for quality assurance of this type of TDDS tapes. The model tapes prepared here employed two kinds of matrices, i.e., rubber or acrylic, which are generally used for transdermal pharmaceuticals. TBR crystals in the matrix were observed by MLRSM. Accurate observation of the distribution of TBR in the tapes was achieved by creating a Raman chemical map based on detecting unique TBR peak in each pixel. Moreover, differences in the growth of TBR crystals in the two kinds of matrices were detected by microscopic observation. MLRSM also enabled the detection of TBR crystals in commercial products. The present findings suggest that Raman micro-spectroscopic analysis would be very useful for verifying and/or assessing the quality of transdermal pharmaceuticals in development, as well as for manufacturing process control.

1. Introduction

Tulobuterol (TBR) transdermal tapes are applied in cases of bronchial asthma as a bronchodilator (β_2 -blocker). TBR suitable for use in transdermal drug delivery because it has high permeability into the keratin layer (Uematsu et al. 1993). TBR pharmaceutical products with a Transdermal Drug Delivery System (TDDS) have advantages such as eliminating the side effects including abdominal pain and appetite loss (Iikura et al. 1995), and maintaining effective blood TBR levels for approximately 24 h (Horiguchi et al. 2004). The release rate of TBR from the matrix is controlled by the formation of TBR crystals. The crystallization of TBR has the possibility of influencing the TBR blood level profile. Therefore, it is necessary to characterize not only the release rate of TBR from a matrix, but also to characterize its crystallinity in dosage form in the matrix. *In vitro* penetration testing using stripped animal skin and *in vitro* release testing have been used to evaluate transdermal pharmaceuticals in terms of penetration and release. Because these evaluation methods show only one of several alternative physicochemical parameters (e.g., release rate, rate of penetration rate of an active substance, etc.), it has remained difficult to clarify the chemical status and quality of transdermal pharmaceuticals. In case of transdermal tapes containing an active drug as crystals in a matrix, the active drug is slowly re-

leased from the matrix into the keratin layer, as crystals will gradually dissolve in a matrix. Therefore, the crystallization of TBR is an important quality parameter. However, evaluation of the correlation of release rates between animal skin and human skin using *in vitro* penetration testing of animal skin has also remained difficult. Therefore, it has become desirable to develop analytical methods of both microscopically and chemically detecting and observing crystals of active drugs in a matrix.



Tulobuterol (TBR)

Laser Raman spectroscopy is a method of spectroscopic analysis of spectra of Raman scattered light obtained by exposure of a sample to a laser. Raman spectroscopy has been used for the identification and quantification of polymorphs (Deely et al. 1991; Falcon et al. 2004; Ferrari et al. 2004; Findlay et al. 1998; Hu et al. 2005; Langkilde et al. 1997; Ono et al. 2004; Schöll et al. 2006; Starbuck et al. 2002; Wang et al. 2000; Murphy et al. 2005) and for monitoring the crystallization process (Taylor et al. 1998;

Murphy et al. 2005; Nørgaard et al. 2005) because it enables the detection of crystals, and in particular, differences between crystal forms. Therefore, Microscopic Laser Raman Spectroscopy/Mapping (MLRSM) was employed in the present study to microscopically and chemically detect TBR crystals in transdermal tapes. The applicability of this spectroscopic analytical method was examined both for the purpose of quality control (i.e., to confirm the crystals of TBR in the matrix), as well as with the aim of enhancing our understanding of relevant quality attributes of prototype pharmaceuticals in various stages of development.

2. Investigations and results

2.1. Determination of a unique wave number range in the Raman spectrum for TBR in model tapes

A typical Raman spectrum obtained from the TBR reference standard substance is shown in Fig. 1. Typical spectra of placebo tape (a) and model tape (b) of rubber matrices are shown in Figs. 2 and 3, respectively. To find characteristic wave numbers of TBR, these spectra were compared with the Raman spectrum obtained from a model tape. The peak bending vibration of C–C at 415cm^{-1} was used as the characteristic peak of TBR, and the integrated values obtained from the wave number range from 420cm^{-1} to 400cm^{-1} were used for making the Raman chemical maps.

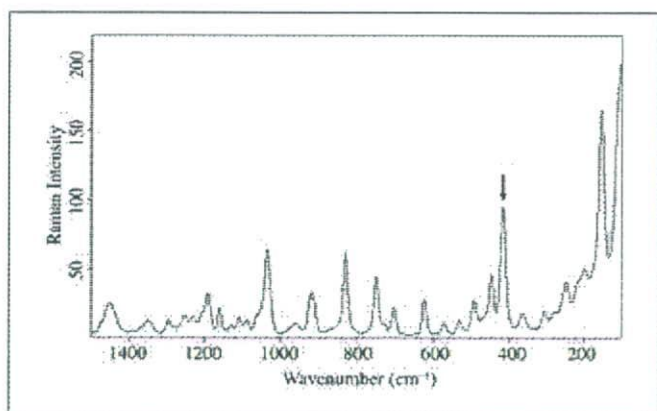


Fig. 1: Typical Raman spectrum of the TBR reference standard. The peak at 415cm^{-1} was chosen as characteristic, because no interfering peak was observed in the vicinity of this peak

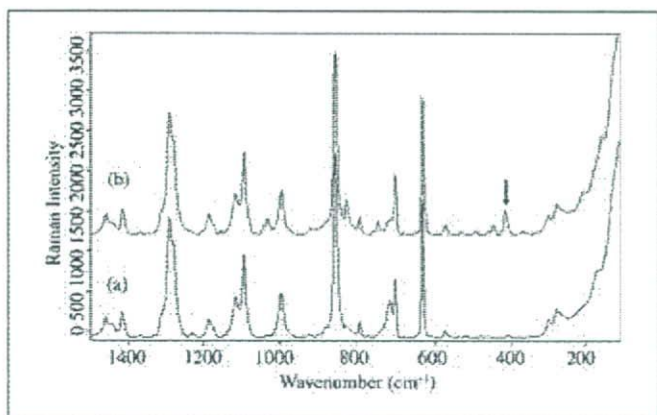


Fig. 2: Typical Raman spectra of placebo (a, rubber matrix) and model tape (b, rubber matrix). The arrow indicates the peak chosen for the specific detection of TBR. Comparatively strong intensity was observed

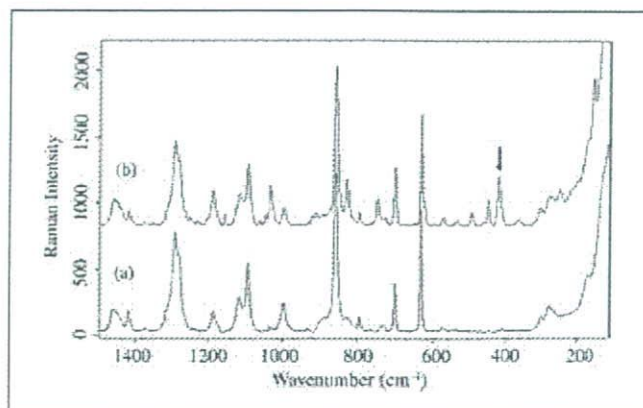


Fig. 3: Typical Raman spectra of placebo (a, acrylic matrix) and model tape (b, acrylic matrix). The very similar Raman spectrum of placebo tape was observed compared with that of the rubber matrix, because the absorption of supporting boards that were made from PET was also detected

2.2. Optical micrograph and Raman chemical mapping of the crystals of TBR in a rubber matrix

Figure 4a shows the micrograph of a $600 \times 500\ \mu\text{m}$ area in the R-10 sample. An enlarged micrograph ($200 \times 200\ \mu\text{m}$) is shown in Fig. 4b. Pillar-shaped crystals (short, $1\ \mu\text{m}$ – $2\ \mu\text{m}$; long, $10\ \mu\text{m}$ – $20\ \mu\text{m}$) that formed in lumps were observed. Figure 4c and d show the three-dimensional (3D) map and the Raman chemical map that corresponds with the area in Fig. 4b. In the Raman chemical map, the distribution of TBR in the matrix corresponded with the distribution of crystals in the optical micrograph. The Raman absorbance intensity corresponded with the distribution of optically observed TBR.

2.3. Optical micrograph and Raman chemical mapping of the crystals of TBR in an acrylic matrix

A micrograph of a $600 \times 500\ \mu\text{m}$ area and an enlarged micrograph of a $200 \times 200\ \mu\text{m}$ area of the A-20 sample are shown in Fig. 5a and b, respectively. In Figure 5c and d, the respective 3D chemical map and Raman chemical map are given that correspond to Fig. 5b. A lump of crystals with radiating branches was observed in the matrix. The Raman chemical map of TBR corresponding to the micrograph was obtained. The Raman chemical maps, which show the distribution of Raman chemical intensity, indicated trace amounts of crystal growth.

2.4. Shapes of crystals of TBR in two types of matrix

The micrograph of early-stage TBR crystallization in an acrylic matrix is shown in Fig. 6a. A lump of crystals with radiating branches was observed. Figure 6b shows the micrograph obtained approximately at the level of the top of branch of the crystal. The findings suggest that the pillar-shaped crystals were successively generated at the top of branches, and that the branches grew radially from the core. In case of the rubber matrix, pillar-shaped crystals that formed individual lumps were observed, as shown in Fig. 4a and b. No signs of a core were observed, and lumps of pillar-shaped crystals occurred individually in the matrix. These findings suggest that the TBR crystal growth mechanism differs in the two types of matrix analyzed here. Empirical evidence suggests that when crystallization was rapid, numerous crystalline lumps lacking a nucleus appeared in all areas of the ma-

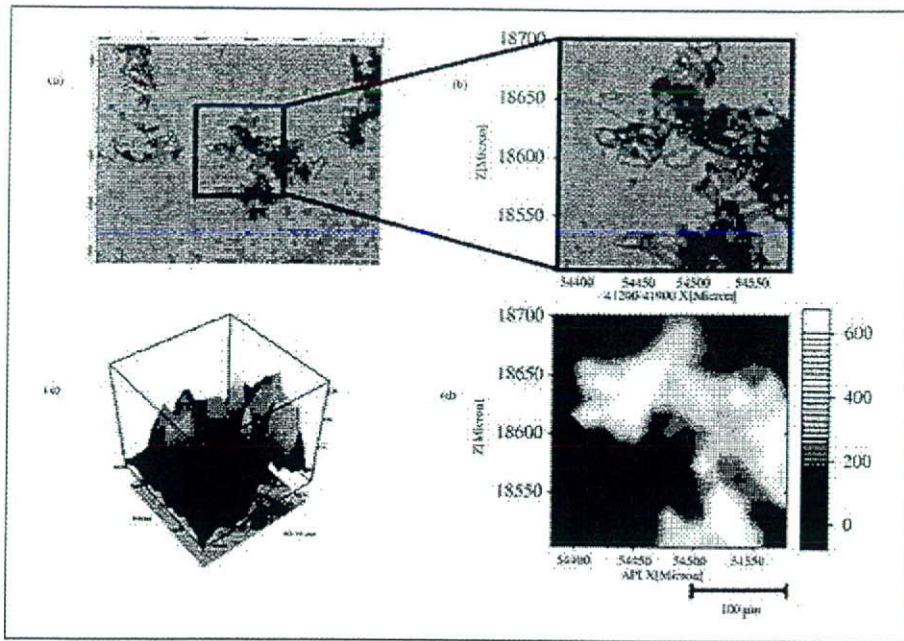


Fig. 4: Micrographs and Raman chemical maps obtained from the model tape (R-10). a: Micrograph of a $600 \times 500 \mu\text{m}$ area, b: Enlarged micrograph of a $200 \times 200 \mu\text{m}$ area, c: 3D Raman chemical map that corresponds with that in d, d: Raman chemical map that corresponds with b. The distribution of the TBR crystals in the matrix was clearly detected by both methods

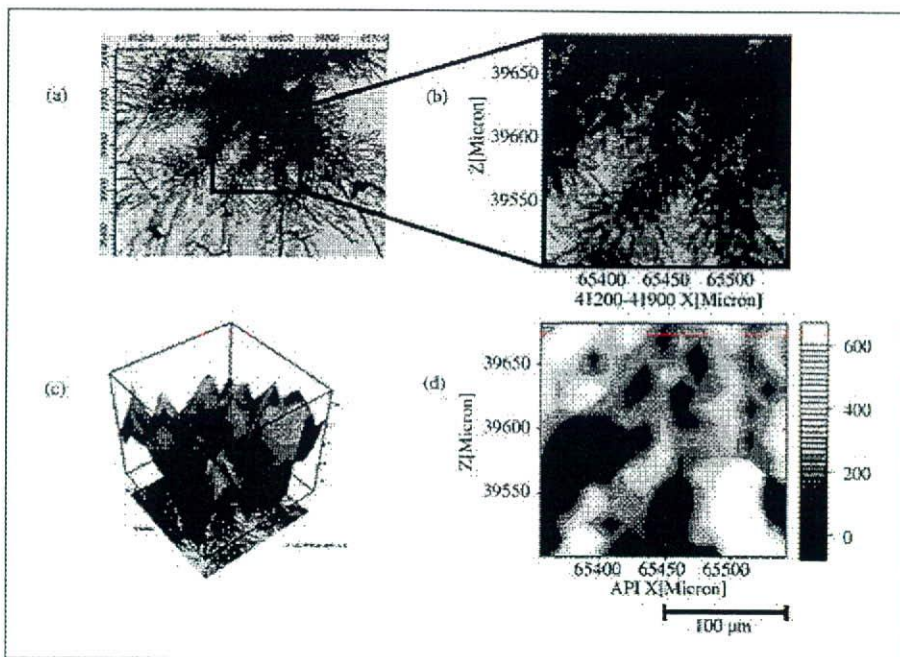


Fig. 5: Micrographs and Raman chemical maps obtained from the model tape (A-20). a: Micrograph of a $600 \times 500 \mu\text{m}$ area, b: Enlarged micrograph of a $200 \times 200 \mu\text{m}$ area, c: 3D Raman chemical map that corresponds with d, d: Raman chemical map that corresponds with b. The mass of the crystals, with radiating branches, was observed in the matrix. The Raman chemical map of TBR corresponding to the micrograph was obtained

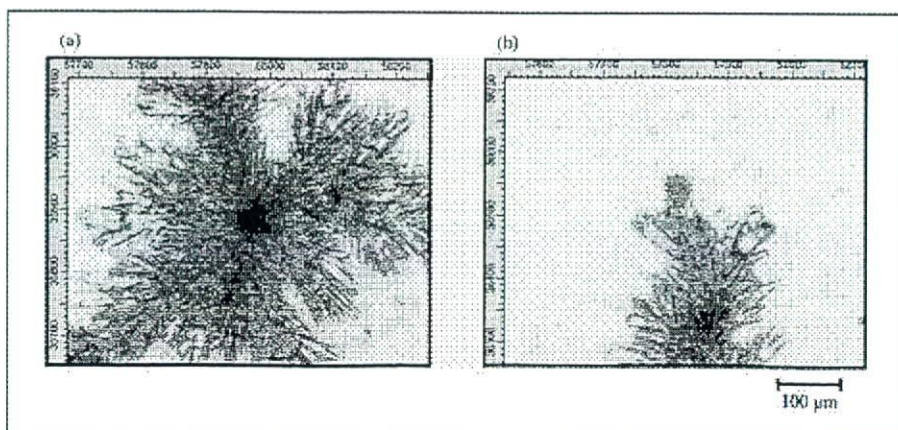


Fig. 6: Micrographs of the mass of TBR crystals obtained from A-20. a: Core with radiating branches, b: Top of the branch. Pillar-shaped crystals generated successively at the top of branches were observed microscopically

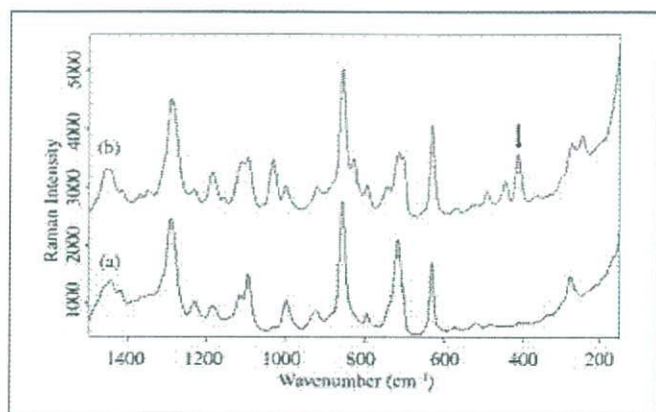


Fig. 7: Raman spectra of commercial tape. a: Background, b: The area where crystals were observed. The characteristic peak (415 cm⁻¹) of TBR was detected

trix, but in cases of slow crystallization, crystals formed around a nucleus. An empirical understanding of such processes would also suggest that the TBR crystals formed more rapidly in the rubber matrix than in the acrylic matrix. The processes of crystallization in these matrices agreed with the empirical evidence obtained here. It appears that new crystals will form around a nucleus, because surrounding molecules are stimulated to crystallize by a nucleus, as shown in Fig. 6. Raghavan et al. (2001) reported that the nucleation process depends in such cases on the hydrogen-bonding functional groups of not only the active drug, but also the polymer. Therefore, it appears likely that differences between the polymer structures of matrices contribute to differences in the process of crystal formation in those matrices. Although further study will still be needed to explain this phenomenon, it appears that the growth mechanism of TBR crystals in each matrix

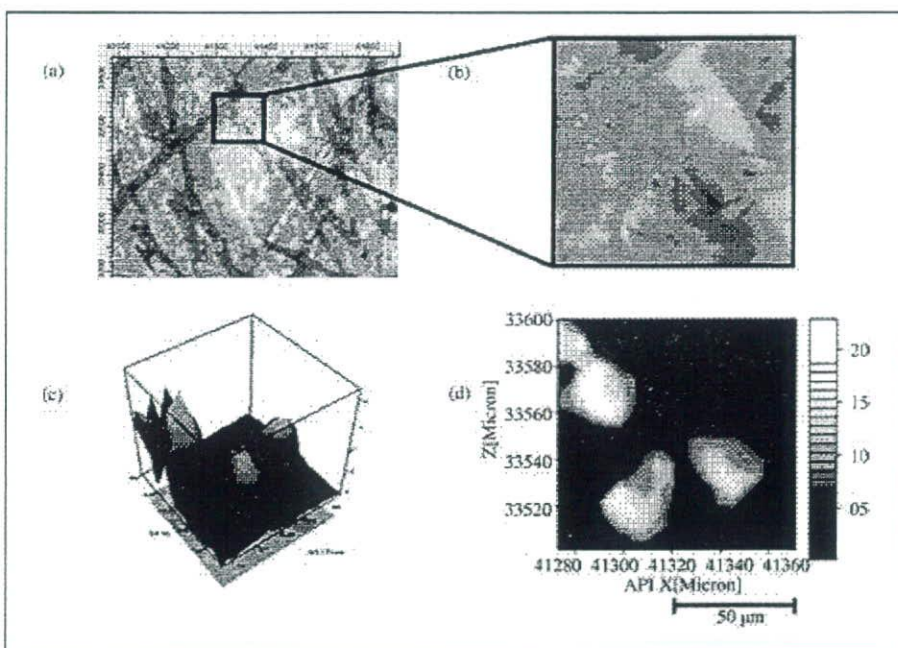


Fig. 8: Micrographs and Raman chemical maps obtained from the commercial tape (1 mg TBR in the tape). a: Micrograph of a 570 × 450 μm area, b: Enlarged micrograph of a 100 × 100 μm area, c: 3D Raman chemical map that corresponds with d, d: Raman chemical map that corresponds with b. TBR crystals were clearly detected in the matrix

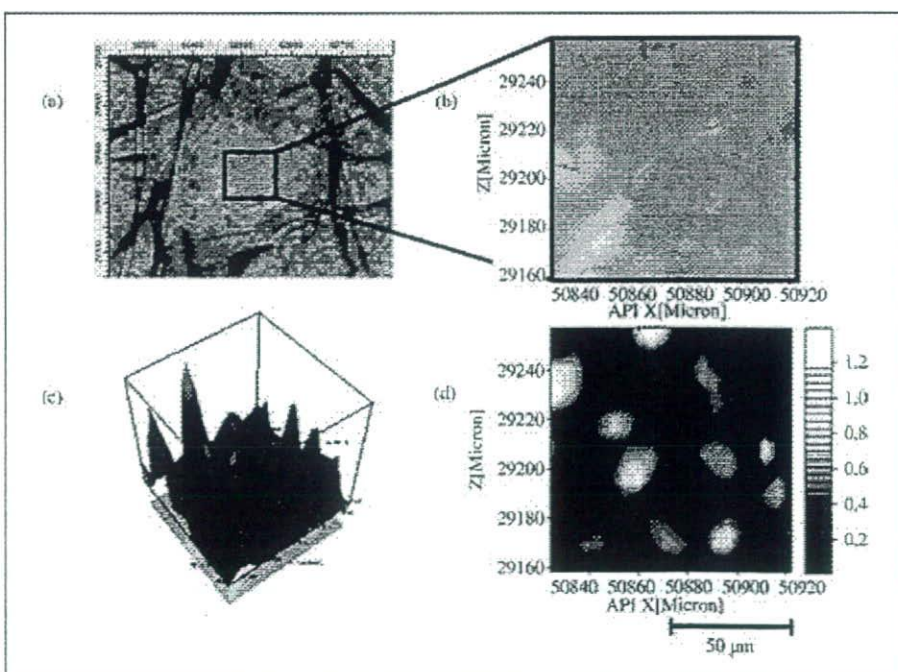


Fig. 9: Micrographs and Raman chemical maps obtained from commercial tape (2 mg TBR in tape). a: Micrograph of a 570 × 450 μm area, b: Enlarged micrograph of a 100 × 100 μm area, c: 3D Raman chemical map that corresponds with d, d: Raman chemical map that corresponds with b. The crystal distribution suggested that rubber matrix was used for these products

may depend in part on hydrogen bonding between functional groups of TBR and the polymer.

2.5. Analysis of commercial products using MLRSM

MLRSM was used here to detect TBR crystals in commercial products. In these samples, there was a supporting board made of cloth, and a liner made of a white, plastic-like material. The tapes were measured after the liner was removed. Figure 7 shows the Raman spectra of commercial tape. Figure 7a or b were obtained from the area where crystals were not observed or the area where crystals were observed, respectively. The characteristic peak of TBR at 415 cm^{-1} was detected. Figures 8 and 9 show the micrographs (a and b) and the Raman chemical maps (c and d) obtained from the commercial product, Hokunalin[®] tape, examined in 1 mg and 2 mg sizes, respectively. Areas in which TBR crystals were observed were selected for obtaining the Raman chemical maps. In both micrographs, more crystals appeared to be present in the 2 mg tape than in the 1 mg tape. However, according to the documentation for this product, several sizes of tape, prepared by cutting sections from a larger sheet, can yield various products. Therefore, the TBR content in a particular unit area in several types of Hokunalin[®] tapes will remain equivalent. It has been hypothesized that the number of crystals in a measured area is affected by the area selected for mapping. Moreover, TBR crystals were also observed that did not assume the lump-shaped formation in this product. Round, pillar-shaped crystals ranging in size from $6 \times 15\ \mu\text{m}$ to $30 \times 40\ \mu\text{m}$ were also observed. The formation of TBR crystals in the product was similar to that observed in a model tape made of a rubber matrix. Helpful information was provided in the attached documentation regarding the medical additives (e.g., polyisobutylene, polybutene, and lipocyclic petroleum resin) used to prepare the rubber matrix. The results of the present study suggest that the crystal formation patterns in a matrix yield useful information about unique matrix characteristics.

3. Discussion

The application of MLRSM to detect the crystals of an active drug in transdermal tapes has been studied. In the case of these TDDS pharmaceutical products, microscopy and chemical mapping method were useful for evaluating the quality of these products as non-destructive spectroscopic technology. Moreover, MLRSM could be used to measure products equipped with a liner for the purpose of quality control during processing, as well as to assess the crystallization of an active drug during storage. Non-destructive spectroscopic methods may be used for analysis of the chemical state and distribution of an active drug, not only in the case of transdermal tapes, but also in film-form products in pharmaceutical development. Furthermore, these methods could be applied as analytical tools to evaluate various factors affecting product quality in the manufacturing process.

4. Experimental

4.1. Microscopic Laser Raman Spectroscopy and Mapping (MLRSM) instrument and measurement conditions

MLRSM measurement was performed using the SENTERRA Dispersive Raman Microscope (Bruker Optics K.K., Germany). Excitation wavelength, laser power, integration time, number of scans, spatial resolution and grating were set at 785 nm, 100 mW, 10 s, 1 scan, $2\ \mu\text{m}$ and 1200 lines/mm, respectively.

4.2. Materials

Tulobuterol (TBR, purity > 99.0%) was provided by Hisamitsu Pharmaceutical Co., Inc. (Tokyo, Japan). 2-Ethylhexyl acrylate vinylpyrrolidone copolymer, isopropyl myristate, polyisobutylene, polybutene, and lipocyclic petroleum resin for matrices of model patches were used as Japanese Pharmaceutical Excipients (JPE)-quality products. Hokunalin[®] Tape (1 mg and 2 mg) (Maruho Co. Ltd., Osaka, Japan) were purchased from a commercial source.

4.3. Preparation of model tapes

Model tapes were prepared by the TDDS Laboratory, Hisamitsu Pharmaceutical Co., Inc. (Tsukuba, Japan). In order to identify crystalline lumps of TBR in the matrix, two types of matrix, rubber and acrylic, were prepared. TBR and other matrix adhesive solution ingredients were mixed and thoroughly stirred. The mixture was extended on a liner and residual solvents were removed by drying. The matrix was adjusted to a constant thickness (approximately $50\ \mu\text{m}$) and pasted onto a supporting board. A polyethylene terephthalate (PET) film was selected for the liner and the supporting board of the model tapes. Then, the sample was cut to a size of 36 mm diameter. TBR crystals in the model tapes were generated by leaving the sample to stand for one week (a rubber matrix) or one month (an acrylic matrix).

Model tapes were prepared that contained 0w/w% (R-0, placebo), and 10 w/w% (R-10) of TBR in a rubber matrix that consisted of polyisobutylene, polybutene, and lipocyclic petroleum resin. Small white crystals were seen in all areas of the matrix in the R-10 sample. Model tapes were prepared that contained 0 w/w% (A-0, placebo) and 20 w/w% (A-20) of TBR in an acrylic matrix composed of acrylic adhesive polymer and isopropyl myristate. Due to the solubility of TBR, higher TBR concentrations were necessary to generate crystals in the acrylic matrix than in the rubber matrix.

4.4. Measurement of model tapes and commercial products

The model tapes with the liner were placed on a measurement stand with the liner side facing up. For the measurement of the model tapes, micrographs were obtained and chemical mapping was performed by microscopically focusing on crystals of interest. For the MLRSM measurements of the commercial TBR transdermal tapes, the tapes were placed without the liner on the measurement stand, with the adhesive side facing up.

Acknowledgement: This study was supported in part by a research grant from the Ministry of Health, Labour and Welfare (H17-iyaku-ippan-040).

References

- Deely C, Spragg R, Threlfall T (1991) A Comparison of Fourier transform infrared and near-infrared Fourier transform Raman spectroscopy for quantitative measurements: an application in polymorphism. *Spectrochim Acta* 47: 1217–1223.
- Falcon J, Berglund K (2004) In situ monitoring of antisolvent addition crystallization with principal components analysis of Raman spectra. *Cryst Growth Des* 4: 457–463.
- Ferrari E, Davey R (2004) Solution-mediated transformation of α to β l-glutamic acid: rate enhancement due to secondary nucleation. *Cryst Growth Des* 4: 1061–1068.
- Findlay P, Bugay D (1998) Utilization of Fourier transform-Raman spectroscopy for the study of pharmaceutical crystal forms. *J Pharm Biomed Anal* 16: 921–930.
- Horiguchi T, Kondo R, Miyazaki J, Torigoe H, Tachikawa S (2004) Clinical evaluation of tulobuterol patch in patients with mild or moderate persistent bronchial asthma-effects of long-term treatment on airway inflammation and hypersensitivity. *Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi* 42: 132–137.
- Hu Y, Liang J, Myerson A, Taylor LS (2005) Crystallization monitoring by Raman spectroscopy: simultaneous measurement of desupersaturation profile and polymorphic form in flufenamic acid systems. *Ind Eng Chem Res* 44: 1233–1240.
- Ikura Y, Uchiyama H, Akimoto K, Ebisawa M, Sakaguchi N, Tsubaki T, Ishizu H, Kabayama H, Yagi K, Miura K (1995) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the tulobuterol patch, HN-078, in childhood asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 74: 147–151.
- Langkilde F, Sjöblom J, Tekenberg-Hjelte L, Mørk A (1997) Quantitative FT-Raman analysis of two crystal forms of a pharmaceutical compound. *J Pharm Biomed Anal* 15: 687–696.
- Murphy BM, Prescott SW, Larson I (2005) Measurement of lactose crystallinity using Raman spectroscopy. *J Pharm Biomed Anal* 38: 186–190.
- Nørgaard L, Hahn MT, Knudsen LB, Farhat IA, Engelsen SB (2005) Multivariate near infrared and Raman spectroscopic quantifications of the crystallinity of lactose in whey permeate powder. *Int Dairy J* 15: 1261–1270.

- Ono T, ter Horst J, Jansens P (2004) Quantitative measurement of the polymorphic transformation of l-glutamic acid using in-situ Raman spectroscopy. *Cryst Growth Des* 4: 465–469.
- Raghavan SL, Trividic A, Davis AF, Hadgraft J (2001) Crystallization of hydrocortisone acetate: influence of polymers. *Int J Pharm* 212: 213–221.
- Schöll J, Bonalumi D, Vicum L, Mazzotti M (2006) In situ monitoring and modeling of the solvent-mediated polymorphic transformation of l-glutamic acid. *Cryst Growth Des*, 6: 881–891.
- Starbuck C, Spartails A, Wai L, Wang J, Fernandez P, Lindemann C, Zhou G, Ge Z (2002) Process optimization of a complex pharmaceutical polymorphic system via in situ Raman spectroscopy. *Cryst Growth Des* 2: 515–522.
- Taylor LS, Zografi G (1998) Quantitative analysis of crystallinity using FT-Raman spectroscopy. *Pharm Res* 15: 755–761.
- Uematsu T, Nakano M, Kosuge K, Kanamaru M, Nakashima M (1993) The pharmacokinetics of the beta 2-adrenoceptor agonist, tulobuterol given transdermally and by inhalation. *Eur J Clin Pharmacol* 44: 361–364.
- Wang F, Wachter J, Antosz F, Berglund K (2000) An investigation of solvent-mediated polymorphic transformation of progesterone using in situ Raman spectroscopy. *Org Proc Res Dev*, 4: 391–395.

TERAHERTZ SPECTROSCOPY AND IMAGING STUDY FOR
QUALITY EVALUATION OF GENERIC DRUGS I.
CIPROFLOXACIN HYDROCHLORIDE TABLETS

Tomooki Sakamoto¹, Alessia Portieri², Daisuke Sasakura³, Tomoyuki
Matsubara³, Tsuyoshi Miura³, Philip F. Taday², Donald D. Arnone², Toru
Kawanishi¹, Yukio Hiyama¹

¹National Institute of Health Sciences Japan ²TeraView Limited United
Kingdom ³Bruker Optics K.K. Japan
tsakamot@nihs.go.jp

Objective

In this work terahertz pulsed spectroscopy (TPS) and imaging (TPI) has been used for quality evaluation of generic drugs. Tablets of Ciprofloxacin hydrochloride (CPFX.HCl), which is one of the effective drugs for anthrax infection, were selected. Tablets from the innovator's and four kinds of generic tablets were measured for acquiring unique THz spectra as well as imaging information.

Experimental

CPFX.HCl, commercially available, was used as the standard substance to identify the API in tablets. Tablets were crushed and polyethylene pellets were pressed together with the resulting powdered tablets. These were measured using the TPS Spectra 1000 system (TeraView Ltd., Cambridge, UK) and THz spectra were obtained. The Imaga 2000 system (TeraView Ltd., Cambridge, UK) was also used to acquire THz images of the intact tablets.

Result and discussions

Unique spectral features between 35cm⁻¹ and 90cm⁻¹ were observed in the spectra from the five kinds of tablets in the spectroscopic measurements. These features are deriving predominantly from the API, CPFX.HCl, as the same features are present when comparing with the API substance alone. The characteristic peaks were observed at 30cm⁻¹, 40cm⁻¹, 80cm⁻¹, 85cm⁻¹.

THz images of the intact tablets were also acquired. When analyzing the images of the tablets it was possible to distinguish between the innovator's tablet from the generic tablets as the generic tablets all showed features of inhomogeneity and added layers in the coating that that might be due to different processing methods, un-uniformity of particle size. The B-scan image specifically show for each tablet that different profiles such as coating thickness and added layers inside the tablets were formed by different compression methods. These results show that the TPS and/or TPI are applicable to discriminate generic tablets from each other as well as from the innovator's tablet and that the technology is useful to evaluate the quality of generic drugs and to compare the brand drugs.

Furthermore, characteristic THz spectra provide the possibility to screen counterfeit drugs from that of the legal product.

Development of quality evaluation method for pharmaceuticals using terahertz wave - terahertz spectral features in re-crystallization DL mixture of amino acids and applicability for an optical purity analysis-

Tomoaki Sakamoto¹, Tadao Tanabe², Tetsuo Sasaki³, Yutaka Oyama², Junichi Nishizawa³,
Toru Kawanishi¹, Yukio Hiyama¹
¹Division of Drugs, National Institute of Health Sciences
²Graduate School of Engineering, Tohoku University
³Center for Priority Area, Tokyo Metropolitan University
tsakamot@nihs.go.jp

Purpose Authors have studied about quality evaluation techniques of pharmaceuticals using terahertz (THz) spectroscopy and imaging. As one of our activities for study on applicability of THz wave for pharmaceutical analysis, amino acids were used to examine distinguishability of chiral isomers by THz wave. Although the distinction between racemate and enantiomer using THz spectroscopy could be developed, identification of each enantiomer has not been realized. The purpose of this study is not only to develop quantitative methods for an optical purity of chiral pharmaceuticals but also to provide concerning spectroscopic understanding of THz wave region.

Experimental All measurements of THz spectra were performed by a GaP THz signal generator system equipped with room temperature operated pyroelectric detectors. Re-crystallized D, L-leucine and their mixtures with several levels of concentration ratio were obtained from water. These spectra of samples were measured at the wave numbers range of between 33cm^{-1} (1 THz) and 167cm^{-1} (5 THz).

Results and discussion Re-crystallized D, L-leucine mixtures appeared the characteristic THz spectral features, and the half width of peaks tended to be narrow compared with those of mixture of them. The peak tops were sifted to lower wave numbers (by 2.5 cm^{-1} - 3.5 cm^{-1}) (Fig. 1). It was suggested that this phenomenon was caused by the change of crystal structure due to re-crystallization of D, L mixtures. Furthermore, the difference of spectral features of THz spectra of re-crystallized D- and L-leucines between 133 cm^{-1} (4 THz) and 190 cm^{-1} (6 THz) was observed (Fig. 2). Then, relatively good correlation between the ratios of the optical isomer and the THz transmittance (%) was also observed. Although further study should be needed to explain detail of this phenomenon, possibility of optical purity measurement is shown in this study. In this symposium, authors will present applicability of THz spectroscopy for purity estimation of optical isomers based on differences of spectral features obtained from several re-crystallization condition of D, L- leucine mixture.

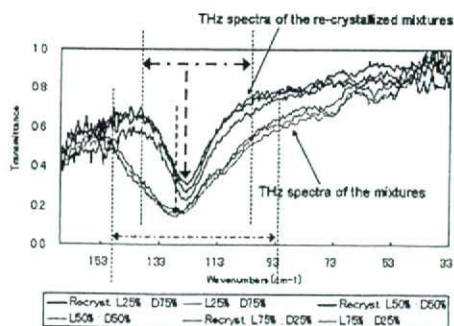


Fig. 1 THz spectra of D,L-leucine mixtures and their re-crystallization mixtures

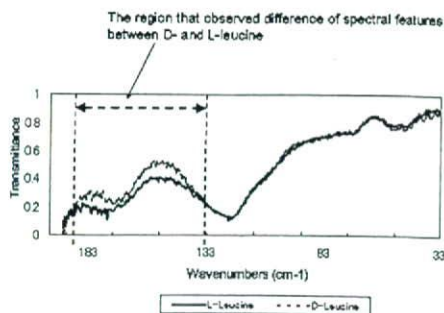


Fig. 2 THz spectra of re-crystallized D- and L-leucine

テラヘルツ (THz) 領域の電磁波は、人体への影響が少なく半透過的であることから、様々な分野での応用が実用化されつつある。特に製薬及び化学分野では結晶形の違いの識別に加え、医薬品原薬や不法薬物において特徴的な波形が観察されることから新たな分析法として注目されている。本研究では、光学活性化合物の識別について光学異性体を含むアミノ酸であるロイシンの結晶作製条件の違いによる試料を用いて検討したところ、結晶構造の違いでテラヘルツスペクトルが変化することを確認した。今後は、光学純度の測定や、医薬品の安定性などの品質評価への応用が期待される。

【P2019】

テラヘルツ波を用いた医薬品評価技術の開発に関する研究 I.

(国立衛研薬品部・東北大院工¹・首都大研究戦略セ²) ○坂本知昭・田邊匡生¹・佐々木哲朗²・小山裕¹・西澤潤一²・川西徹・檜山行雄 [連絡者：坂本知昭，電話 03-3700-1141, E-mail: tsakamot@nihs.go.jp]

テラヘルツ (THz) 波領域 (100GHz-10THz, 3cm^{-1} - 333cm^{-1}) の電磁波は、人体への影響は少なく、半透過的であることから、空港等での危険物や爆発物の検知などのセキュリティ分野や体組織中の腫瘍などを映像化する T-ray 可視化技術への応用など医療分野において実用化されつつある。製薬・化学分野においては、水素結合などの弱い分子間エネルギーや結晶格子のフォノン振動などを検出する特性を利用した結晶形の変化の識別や、医薬品原薬や不法薬物などの特徴的な波形の検出が報告されており、指紋的波形を用いた定性・定量分析への応用が期待されている。しかしながら、スペクトルの解釈など未知の部分も多く、分析手法の確立に向けて検討課題が積み重なっている。本研究は薬効にも影響する光学活性化合物の識別性について検討したものである。THz 波によるラセミ化合物の識別は可能であるが、個々の光学異性体の識別手法は具体的には実現されていない。そこでアミノ酸であるロイシンの結晶作製条件に起因する THz 波形の違いに着目し、光学異性体を含む結晶構造の識別を試みた。図では L 体、D 体 50% ずつの混合試料と混晶試料 (再結晶) の THz スペクトル (167cm^{-1} - 33cm^{-1} (1Hz-5Hz)) を示したが、再結晶試料では混合試料と比べて吸収の幅が狭くなり、吸収極小ピークが低波数側にシフトしていることが観察され、混晶形成による結晶構造の違いがスペクトルのシフトと関連することが示唆された。更に光学純度を定量的に測定できる可能性も示唆された。以上の成果は、THz 波による光学純度測定への可能性を示すとともに、有効性、安全性など光学活性医薬品の品質評価への THz 波の適用可能性を示すものであった。

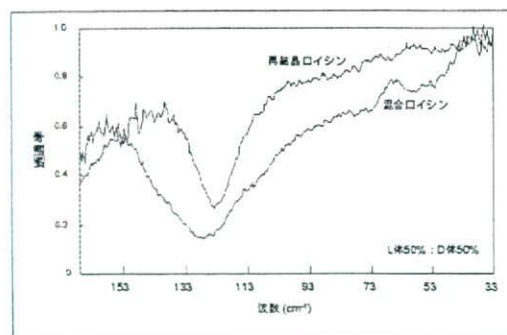


図 L体とD体のロイシン (50%:50%) における混合試料と再結晶試料のテラヘルツスペクトル

Qualitative Investigation of Tulobuterol Transdermal (TDDS) Tapes using Near Infrared Spectroscopy and Imaging

Tomoaki Sakamoto,¹ Daisuke Sasakura,² Yasunori Takada,³ Kazunosuke Aida,³
Yasuto Fujimaki,⁴ Tomoyuki Matsubara,² Tsuyoshi Miura,²
Takaaki Terahara,³ Toru Kawanishi¹ and Yukio Hiyama¹

¹Division of Drugs, National Institute of Health Sciences, Tokyo 158-8501, Japan,
E-mail: tsakamot@nihs.go.jp

²Bruker Optics K.K., Tokyo 110-0016, Japan

³TDDS Laboratory, Hisamitsu Pharmaceutical Inc., Tsukuba 305-0856, Japan

⁴Tokyo Metropolitan Industrial Technology Research Institute, Tokyo 125-0062, Japan

Abstract

The objective of this work is to develop an evaluation method for crystallization of tulobuterol (TBR) in transdermal pharmaceuticals using near infrared spectroscopy (NIRS) and near infrared imaging (NIRI). The unique absorption, the first overtone of secondary amine was used for detection of TBR crystals in the matrix. More than 30 days of the duration process was needed to complete the crystallization of TBR in tulobuterol transdermal (TDDS) model tapes. A time-course distribution analysis of TBR crystals in the matrix was conducted using NIRI.

Keywords: tulobuterol, transdermal tape, TDDS, crystallization

Introduction

An evaluation method for crystallization of tulobuterol (TBR) in transdermal pharmaceuticals using near infrared spectroscopy (NIRS) and near infrared imaging (NIRI) has been developed. TBR exists as crystal form in matrices to control its release rate from matrices into skin, because it has highly skin penetration. Although crystallization of TBR is very important for quality control of TBR Tapes, confirmation of TBR crystals in products is not possible by a commonly used release testing. Therefore, the end point of the crystallization manufacturing process depends on information obtained from the development stage of product. In this symposium, authors will present not only the development of NIRS/NIRI analysis for evaluation of crystallization process of TBR but also the comparison study of TBR distribution and microscopic investigation between the brand and generic products.

Materials and methods

Sample

Model tapes were prepared by the tulobuterol transdermal (TDDS) Laboratory, Hisamitsu Pharmaceutical Co., Inc. (Tsukuba, Japan). Model tapes that contained 0 % w/w (R-0, placebo), and 10 % w/w (R-10) of TBR in a rubber matrix that consisted of polyisobutylene, polybutene, and lipocyclic petroleum resin, were prepared for this study. Small white crystals were seen in all areas of the matrix in the R-10 sample. TBR and other matrix adhesive solution ingredients were mixed and thoroughly stirred. The mixture was extended on a liner and residual solvents were removed by drying. The matrix was adjusted to a constant thickness (approximately 50 μm) and pasted onto a supporting board. A polyethylene terephthalate (PET) film was selected for the liner and the supporting board of the model tapes. Then, the sample was cut to a size of 36 mm diameter. TBR crystals in the model tapes were generated by leaving the sample to stand.

Brand and generic products were purchased from commercial source.

Spectral acquisition

The Fourier transform (FT)-NIR spectrometer model MPA (Bruker Optics, Ettlingen, Germany) was used for spectral acquisition and to make macroscopic (spatial resolution: 3 mm) NIR chemical maps. The VERTEX 70 with the infrared microscope model HYPERION 2000 (Bruker Optics, Ettlingen, Germany) was used for acquiring NIR chemical images. Resolution, scan numbers were 2 cm^{-1} , 64 scans for the MPA, 16 cm^{-1} , 32 scans for the VERTEX70, respectively. Measurement range of both analyses was 8000 cm^{-1} to 4000 cm^{-1} . In case of macroscopic NIR chemical maps, resolution and scan numbers were set at 4 cm^{-1} and 64 scans, respectively.

Data analysis

Data analysis was performed with OPUS 6.5 software (Bruker Optics, Ettlingen, Germany). The unique peak at 6450 cm^{-1} based on crystallization and its integrated values were used to detect TBR crystals and to make chemical images. Relative intensities (%) of TBR absorptions were calculated for estimating of crystallization rate of TBR.

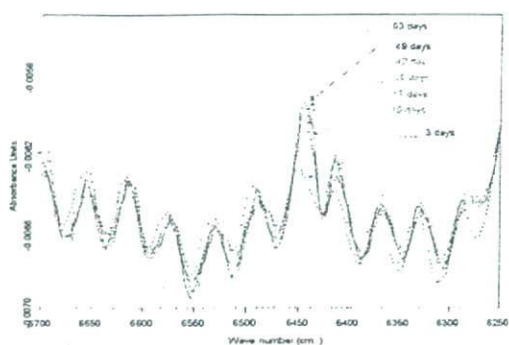


Figure 1. Time-course of the unique near infrared absorbance of tolbuterol (TBS) crystals in tolbuterol transdermal (TDDS) model tapes.

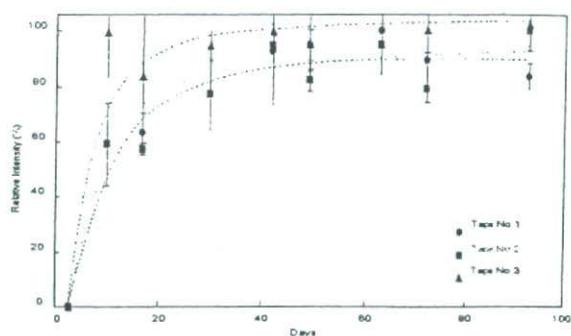


Figure 2. Day-relative peak intensity correlation of tolbuterol (TBS) crystallization.

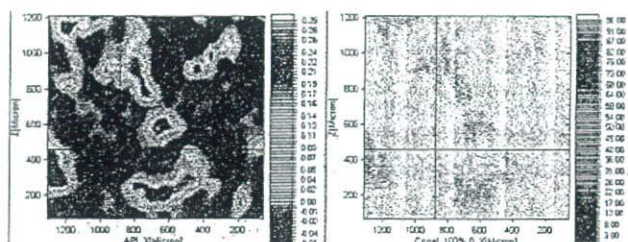


Figure 3. Near infrared chemical image (Left) and microphotograph (Right) of tolbuterol (TBS) crystals in tolbuterol transdermal (TDDS) model tapes.

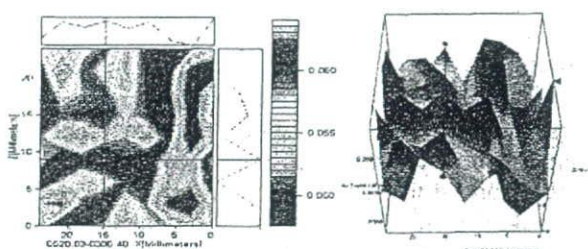


Figure 4. Typical macroscopic near infrared map and three dimensional (3D) map of tolbuterol (TBS) crystals in commercial tape.

Results and discussion

Detecting the unique peak against crystallization provided distribution information of TBR crystals in matrix (Figure 1). Estimation of the end point of crystallization of TBR in the model tapes was possible by observing time-course changes of the crystal distribution (Figure 2). Moreover, the growth of bulk of TBR crystals was traceable chemically using the microscopic NIR chemical imaging technique (Figure 3). The other hands, a macroscopic NIR chemical mapping by measuring 15 x 15 mm area, which can cover the most of a commercial tape area, could provide rough distribution information of crystals in commercial tapes quickly. The macroscopic maps obtained from several commercial tapes which were made from one batch showed un-uniformly distribution of TBR crystals in each tape (Figure 4). This result suggests the bulks of TBR crystal were generated irregularly in the matrices. Moreover, this method was applied to detect TBR crystals in 7 kinds of generic tapes. No any unique peak which shows an existence of crystals were observed in all generic tapes prescribed by different way to control release rate compared with the brand product. This approach was also applicable to confirm TBR crystal in commercial tapes.

Conclusion

This approach with a combination of the three methods would be useful for not only an end point estimation of crystallization of an active drug in the manufacturing process development stage but also an identification of crystals of an active drug in products. Moreover, NIR chemical images used by the characteristic peak of crystallization of an active drug can be used for analysis of a mechanism of crystallization of chemicals in polymer. Furthermore, a macroscopic NIR chemical mapping provides information of rough distribution of TBR crystals in comparatively wide-area with short analytical time. For example, this rapid macroscopic mapping technique would be used to determine crystalline uniformity of the tapes. This innovative and non-destructive quality evaluation method using NIRS/NIRI or macroscopic mapping techniques will contribute to build unique and/or robust quality system for development and manufacturing of TDDS pharmaceuticals.

Acknowledgement

This study was supported in part by a research grant from the Ministry of Health, Labour and Welfare (H20-iyaku-ippan-004).