

平成 25 年度厚生労働科学研究費補助金  
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)  
分担研究報告書

医薬品品質保証システムの進捗に対応した日本薬局方の改正のための研究  
—化学合成医薬品の試験法及び各条規格の改正に関する研究—

研究分担者 国立医薬品食品衛生研究所 奥田晴宏

研究要旨

国際的に受け入れられるレベルの高い品質管理を行うために、新しい分析評価技術の開発、導入が進んでいる。我が国の局方もこれらの新しい技術の開発、導入に対応する必要がある。本研究では現在、新しい分析技術として医薬品品質評価に導入されつつある手法として、ラマン分光法を取り上げた。アセトアミノフェン等の結晶多形を持つ原薬、製剤について、ラマン分光法により測定を行ったところ、これらの結晶多形の判別には有効であった。特に超低波数及びアンチストークス領域のラマンスペクトルについては結晶多形の判別性が高く、原薬の確認試験に用いるには有効であると考えられた。製剤の確認試験への応用については、通常のラマン領域でも錠剤、カプセル剤のような製剤に適応が可能であった。しかし医薬品の中には、蛍光を発する化合物が含まれていることもあるため、製剤処方によっては測定が難しい場合があった。超低波数及びアンチストークス領域を用いたラマン分光法の導入など対策を講じる必要があると考えられた。

研究協力者

国立医薬品食品衛生研究所 香取典子  
国立医薬品食品衛生研究所 小出達夫  
日本大学 薬学部 深水啓朗

A. 研究目的

近年の医薬品製剤開発では、より信頼性の高い品質保証を行うために QbD (Quality by Design) アプローチによる製剤開発を採用するケースが増加している。QbD アプローチを行うためには、製剤及びその製造工程を理解して CQA (Critical Quality Attribute: 重要品質特性) をより適切に把握する必要がある。そのために PAT (Process Analytical Technology) が導入されることが多く、工程をモニタリングできる分析評価技術が導入されるようになってきている。また医薬品原薬や添加剤

のサプライチェーンが複雑化、国際化の傾向があり、生産拠点は海外、あるいは国内生産であっても中間体や出発物質は海外から輸入というケースが日常的に見られる。このような我が国とは異なる製造方法や原材料を用いて製造された医薬品を安全に管理、流通させるために、新しい分析評価技術が開発されている。そこで我が国の局方も新しい分析評価技術の開発、導入に対応する必要がある。

現在、新しい分析技術として医薬品品質評価に導入されつつある手法として、近赤外分光法やラマン分光法などの非破壊的な手法が挙げられる。これらの手法は、PAT として医薬品製造工程モニタリング、さらには最終品質試験を代替するためのリアルタイムリリース試験に最適な分析技術として注目されている。また、これらの分光法は原薬、

製剤の確認試験としてこれまでの紫外、赤外分光法や薄層クロマトグラフィーに代わる技術として注目され始めている。GMP が十分機能していない国からの医薬品原材料の受入れ試験(確認試験)は、欧州では既に全ての容器に対して実施している。従来の局法試験にあるサンプリング法による確認試験で最も多く用いられている赤外分析法は、このような全数試験には不向きであり、これに代わる手法が必要となる。近赤外やラマンを用いた品質管理手法は、赤外分光法とは異なり KBr などによるサンプル処理が不要で、非破壊であるため測定が迅速であり、数多くのサンプル測定が可能である。そのため、近年、実際にこれらの手法を導入する企業が増加している。

これらの分析法を用いた医薬品品質管理手法が確立されることにより、我が国でも国際的に受け入れられるレベルの高い品質管理を行うことが可能となる。しかしながら、ラマン分光法は USP や EP には既に収載されているが、日局にはまだ収載されておらず、日本ではラマン分光法を用いた試験の品質規格・基準の作成についてはまだ明確な統一基準がないため、規格試験としては普及はしていない。また、製造工程中で試験を行う PAT のような試験についての対応も局方中にはまだほとんど組み込まれていないのが現状である。そこで本研究ではラマン分光法を取り上げ、試験法の有効性及び試験条件、確認試験や定量試験などの品質試験へ導入した際における問題点について検討を行うこととした。本年度は、ラマン分析法の判別性を評価するため、測定対象試料として化学構造が同じであるが結晶構造が異なり品質上判別する重要性がある結晶多形を持つ化合物及びその製剤を選択した。また、一般的なラマン分光法のみならず近年開発されている手法で医薬品品質評価への応用が有望視されている超低波数及びアンチストークス領域を用いたラマン分析法についても検討を行った。

## B. 研究方法

### B-1. 試料

インドメタシンの 1 形は市販されている試薬(東京化成)を用いた。2 形は 1 形 0.2g を 20mL のエタノールに溶解し、精製水 180mL を加え、1 時間後に析出した結晶をろ取り、40℃ で 12 時間乾燥したものをを用いた。プロブコールの 1 形は第一三共より提供されたものをを用いた。2 形は 1 形 2g を振動型ロッドミルで 60 分間粉碎したものをを用いた。アセトアミノフェンの 1 形は市販されている試薬(東京化成)を用いた。2 形は 1 形 0.5g をアルミホイル上に秤取りし、バーナーで加熱して融解させ、室温で 1 時間静置し、得られた固体を乳鉢で軽く粉碎したものをを用いた。以上の各結晶形は粉末 X 線回折により確認を行った。

添加剤は無水乳糖(関東化学)、乳糖水和物、トウモロコシデンプン、カルボキシメチルセルロースナトリウム、(和光純薬)結晶セルロース(Alfa Aesar)を用いた。

製剤にはアセトアミノフェンを含有するカロナール錠(昭和薬品化工)及び市販の風邪薬(カプセル及び顆粒)を用いた。

### B-2. ラマン測定及び解析

一般的なラマンスペクトル測定には携帯型ラマン分光装置 TruScan RM™(Thermo SCIENTIFIC)を用いた。測定は励起波長 785nm、波数範囲 200~2900 $\text{cm}^{-1}$ 、波数分解能約 1.5 $\text{cm}^{-1}$ で行った。露光時間、積算回数等は機器が最適な条件に自動的に制御するようになっている。各粉体試料はポリエチレンの袋に入れて測定した。

超低波数及びアンチストークス領域のラマンスペクトル測定には Ondax 及び Tornado 社のラマン分光器を組み合わせたシステムを用いた。測定は励起波長 785nm、波数範囲-200~200 $\text{cm}^{-1}$ 、波数分解能約 1 $\text{cm}^{-1}$ 、露光時間 1 秒、積算回数 40 回で行った。各試料は円筒型ガラス瓶に入れて測定した。

得られたスペクトルはデータ解析ソフト lsys (Malvern)を用いて解析を行った。

## C. 研究結果

### C-1. 原薬結晶多形のラマンスペクトル

アセトアミノフェン(1型、2型)、プロブコール(1型、2型)、インドメタシン(型、型)の各結晶形の粉末 X 線回折スペクトルを Fig.1 に示す。各結晶多形の X 線回折スペクトルは異なり、それぞれ異なる結晶多形であることが確認された。

アセトアミノフェン、プロブコール、インドメタシンの各結晶形のラマンスペクトルを Fig.2 に示す。アセトアミノフェンにおいては、 $1200-1250\text{cm}^{-1}$  及び  $1500-1600\text{cm}^{-1}$  付近で各結晶形におけるスペクトルの違いが認められた。プロブコールにおいては、 $500-650\text{cm}^{-1}$  及び  $900\text{cm}^{-1}$  付近において違いが認められた。インドメタシンについては 形では蛍光の影響が出てベースラインシフトを起こしており、またスペクトルも異なる部分が各所に見られた。以上の各結晶多形のスペクトルは原薬の場合は容易にラマンスペクトルによる判別が可能であった。一方、参考までに同じ非破壊手法である近赤外分光法により測定を行ったが、結晶多形間でスペクトルが異なる箇所は少なく、特にインドメタシンは多形間の判別は難しかった。

### C-2. 製剤のラマンスペクトル

アセトアミノフェン約 66.7%含有のカロナール錠のラマンスペクトルを Fig.3 に示す。アセトアミノフェン 1型とほぼ一致するスペクトルが認められた。しかし含有されている乳糖やセルロースなどの賦形剤のスペクトルは確認されなかった。

アセトアミノフェン約 30%含有の市販の風邪薬(カプセル剤)のラマンスペクトルを Fig.4 に示す。同じくアセトアミノフェン 1型とほぼ一致するスペクトルが認められた。また 20%ほど含有しているエテンザミド由来のピークも確認された。しかし同じく乳糖などの賦形剤のスペクトルは確認されなかつ

た。測定はカプセル越しからも可能であったが、着色(黄色)されている部分から測定した場合はスペクトル強度が若干弱くなっていた。

アセトアミノフェン約 16%含有の市販の風邪薬(顆粒)のラマンスペクトルを Fig.5 に示す。生薬等の他の化合物が多く入っており、そのうちいずれかの化合物が発する蛍光の影響が大きく、アセトアミノフェンに由来するスペクトル及び他の化合物由来のスペクトルについても確認できなかった。製剤の場合はラマン分光法による結晶多形のスペクトル判別は多くの製剤で可能と考えるが、他の化合物による蛍光の影響が出ないことが条件となる。

### C-3. 新しいラマン分光法～超低波数及びアンチストークス領域のラマンスペクトル

アセトアミノフェン、プロブコール、インドメタシンの超低波数及びアンチストークス領域の各結晶多形のラマンスペクトルを Fig.6-8 に示す。いずれの化合物のストークス及びアンチストークス領域のラマンスペクトルは対照的であったが、アンチストークス領域のラマンスペクトルの方は若干ピーク強度が弱かった。アセトアミノフェンについては通常のラマン領域に比べ各所に明確な結晶形の違いによるスペクトルの違いが認められた。プロブコールについては類似性が高いものの  $20-40\text{cm}^{-1}$  付近において明らかな違いが認められた。インドメタシンについては 形においてはピーク強度が全体的に弱く 形と大きな違いが認められた。

無水乳糖及び乳糖の超低波数及びアンチストークス領域のラマンスペクトルを Fig.9 に示す。一水和物に関しては特徴的なピークが見られたが無水ではほとんどピークは認められなかった。他にセルロース、トウモロコシデンプン、カルボキシメチルセルロースナトリウムなどの添加剤の測定も行ったが、これらの添加剤はこの領域にはピークが存在しなかった。

超低波数及びアンチストークス領域の各結晶多形のラマンスペクトルは、一般的な領域よりも明らかな違いが見られ、原薬の場合は容易にラマンスペクトルによる判別が可能であった。

#### D. 考察

ラマン分光法は赤外分光法と同様、物質に光をあてて分子の振動情報を得ることにより、化合物の分子構造の確認、定量ができるが、赤外分光法とは異なり、S-S や C-C 結合のように分子の振動によって分極率の体積が大きく変化する対称性のよい振動モードが強く検出される。そして一般的には結晶多形の判別はラマン分光法の方が効率よく行える傾向があると言われている。非破壊手法で同様な用途として用いられる分析手法として、日局参考情報に掲載されている近赤外分光法があるが、測定の際に温度、湿度などの外部環境や粒子径など主薬や添加剤の物性の影響を受けやすい、手法が複雑で妥当性の評価が難しいなどの欠点がある。また、用いる波数帯も結晶多形の判別には向かないと予想され、実際に測定を行ったところ、結晶多形の判別は難しかった。ラマン分光法、特に今回用いた超低波数及びアンチストークス領域のラマンスペクトルは、波数のシフトの少ない=エネルギーの低い結合が示される領域である。弱い分子同士の結びつきに関わる情報が出てくるため、化学的には変わりがなない結晶多形の判別には最適な方法と考える。同領域を利用するテラヘルツ分析法もあるが、空気中の水分に影響を受けるため主薬の確認試験、特に製造現場で用いることに限ればラマン分光法による分析の方がより有用性が高いと考えられる。

製剤においては、原薬以外にも賦形剤などの添加剤が入っており、測定、解析にはその影響を考慮する必要がある。医薬品に一般的に使われるスターチ、セルロース系の添加剤はラマンスペクトル強度が全体的に弱く、特徴的なピークも少ない。

製剤中の主薬の確認試験には添加剤のピークが無い方が有利ではあるが、これらの添加剤は蛍光を発生するものが多く、多量に含まれる場合は一般的な領域を用いたラマン分光法による分析は難しい。また主薬の中にも蛍光を発するものがあり、そのため製剤処方によっては解析が難しいものもあると考えられる。超低波数及びアンチストークス領域のラマンスペクトルを利用することができれば、蛍光による妨害を防ぐことができる上、結晶性に関する情報が多く得られることから、蛍光を発生する化合物や結晶多形が存在する化合物が含まれる製剤を、より効率的に判別することが可能であると予想される。ただし乳糖水和物のような結晶性が高く、この領域にラマンピークを持つ添加剤や、インドメタシン 型のような結晶性が低いこの領域では感度が低い原薬などもあるため、その場合の分析には考慮が必要である。

今後の課題としては、これから増加すると思われる co-crystal 製剤のような特殊な製剤への適用、PAT のような工程内試験への適用が挙げられる。特に、工程内試験を行うときの原料の同一性担保及びシステム適合性の評価として、原料受入の際のスペクトルの同等性の評価について、今後詳細に検討が必要であると考えられる。

#### E. 結論

ラマン分光法はアセトアミノフェンなどの結晶多形の判別には有効であった。特に超低波数及びアンチストークス領域のラマンスペクトルについては結晶多形の判別性が高く原薬の確認試験には有効であると考えられた。製剤の確認試験への応用については、錠剤、カプセル剤のような製剤に適用が可能であった。しかし医薬品原料の中には、蛍光を発するものもあるため、測定が難しい場合があった。超低波数及びアンチストークス領域を用いたラマン分光法の導入など対策を講じる必要があると考えられる。

研究成果発表

医薬品のレギュラトリーサイエンス, 豊島  
聰 黒川達夫 編 pp 15-24 有効性と安全  
性の基盤となる品質特性 1、2 南山堂(東京)  
2014

口頭発表

1) J. Carriere, F. Havermeyer, R. Heyler, T.  
Fukami, T. Koide  
Low Frequency/THz-Raman™ Spectroscopy:

Using Structural Information for Material  
Identification

SCIX 2013 (2013.9 Reno, USA)

2) 小出達夫、深水啓朗、香取典子、奥田晴宏、  
鈴木豊史、伴野和夫、合田幸広

超低波数及びアンチストークス領域を用いたラ  
マン分光法による主薬及び医薬品添加物の確認  
試験に関する研究

日本薬学会第 134 年会 (2014.3 熊本)

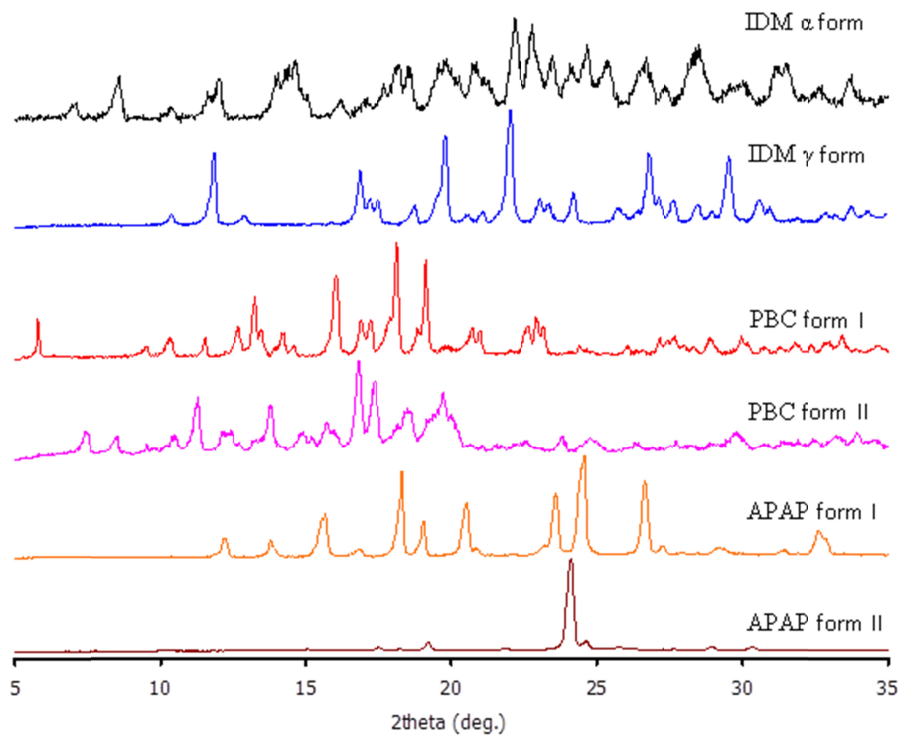


Fig.1 粉末 X 線回折スペクトル

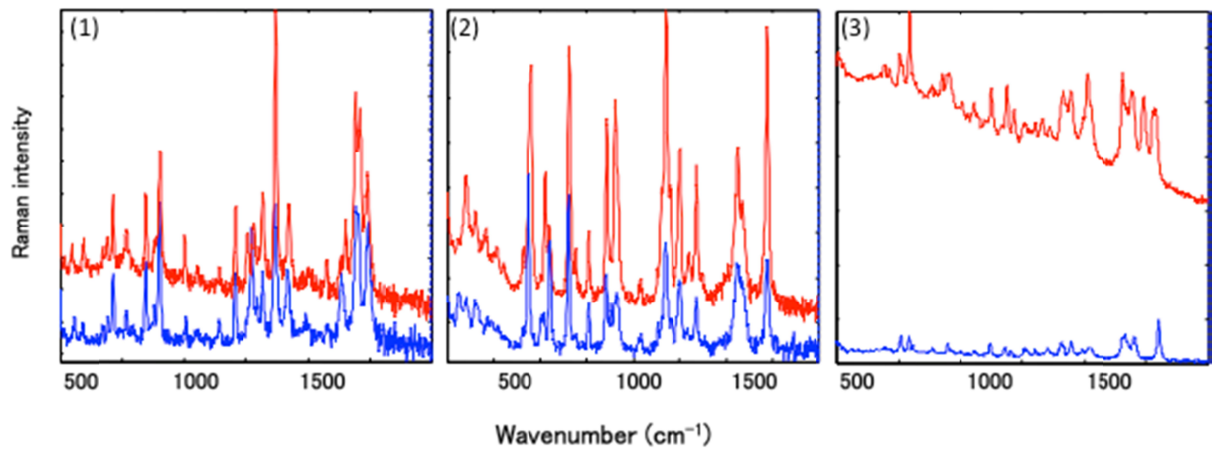


Fig.2 結晶多形のラマンスペクトル

- (1) Acetaminophen Blue : Form 1, Red :Form 2  
 (2) Probutol Blue : Form 1, Red :Form 2  
 (3) Indomethacin Blue : Form , Red : Form

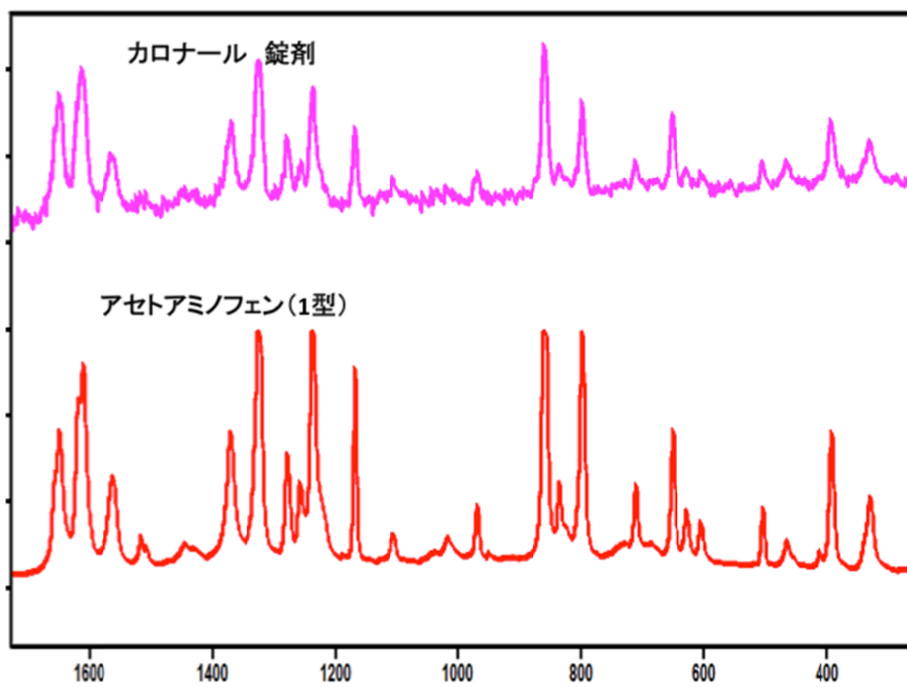


Fig.3 アセトアミノフェン含有錠剤のラマンスペクトル

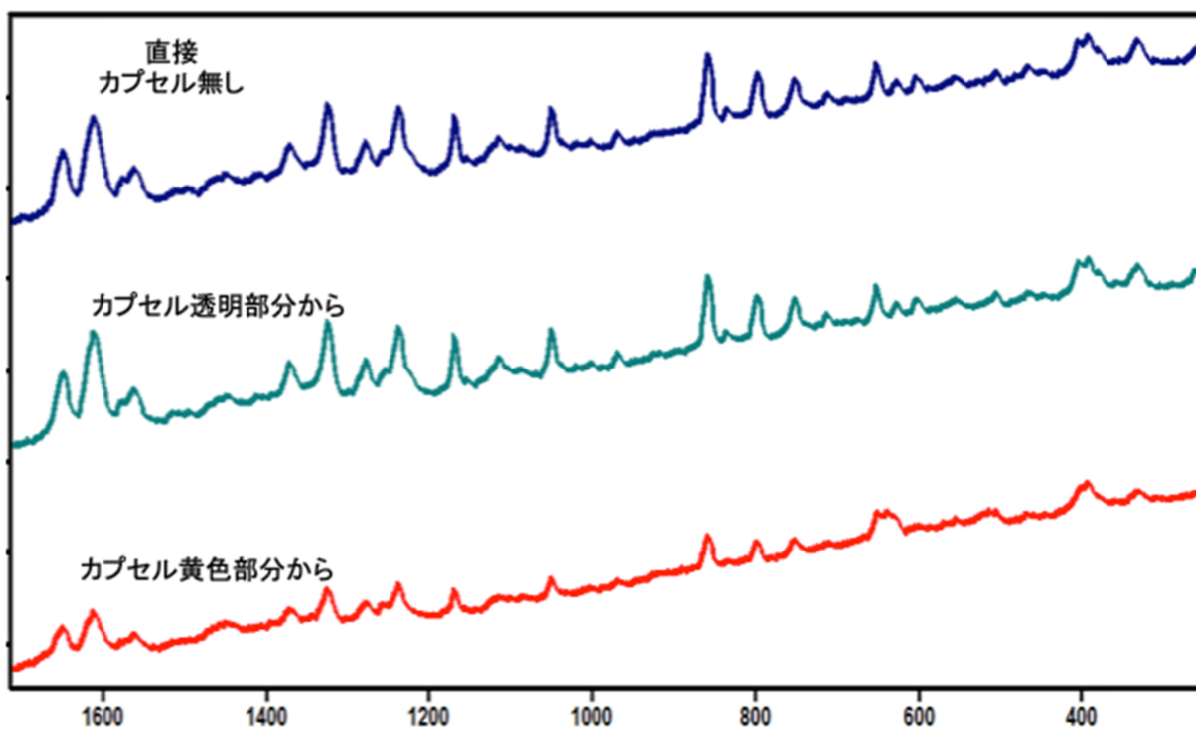


Fig.4 アセトアミノフェン含有カプセル剤のラマンスペクトル

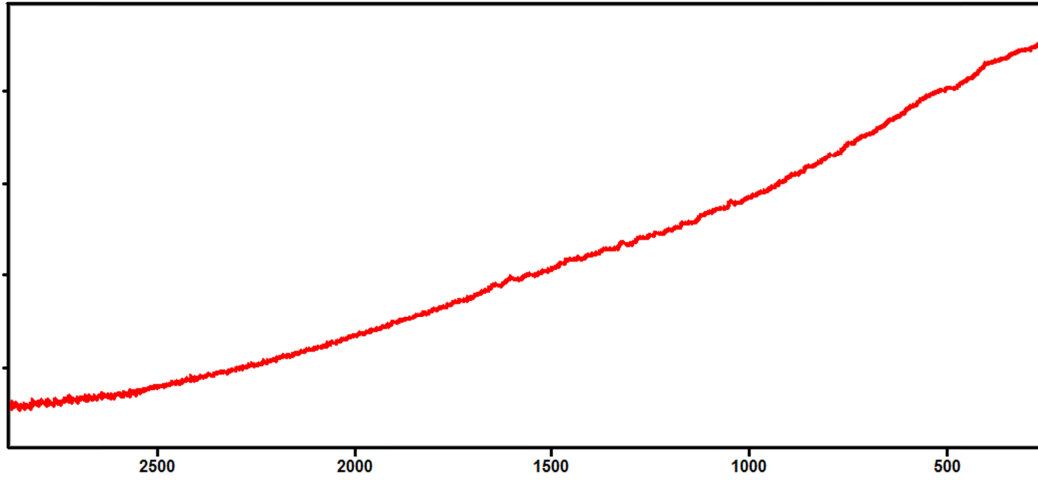


Fig.5 アセトアミノフェン含有顆粒剤のラマンスペクトル

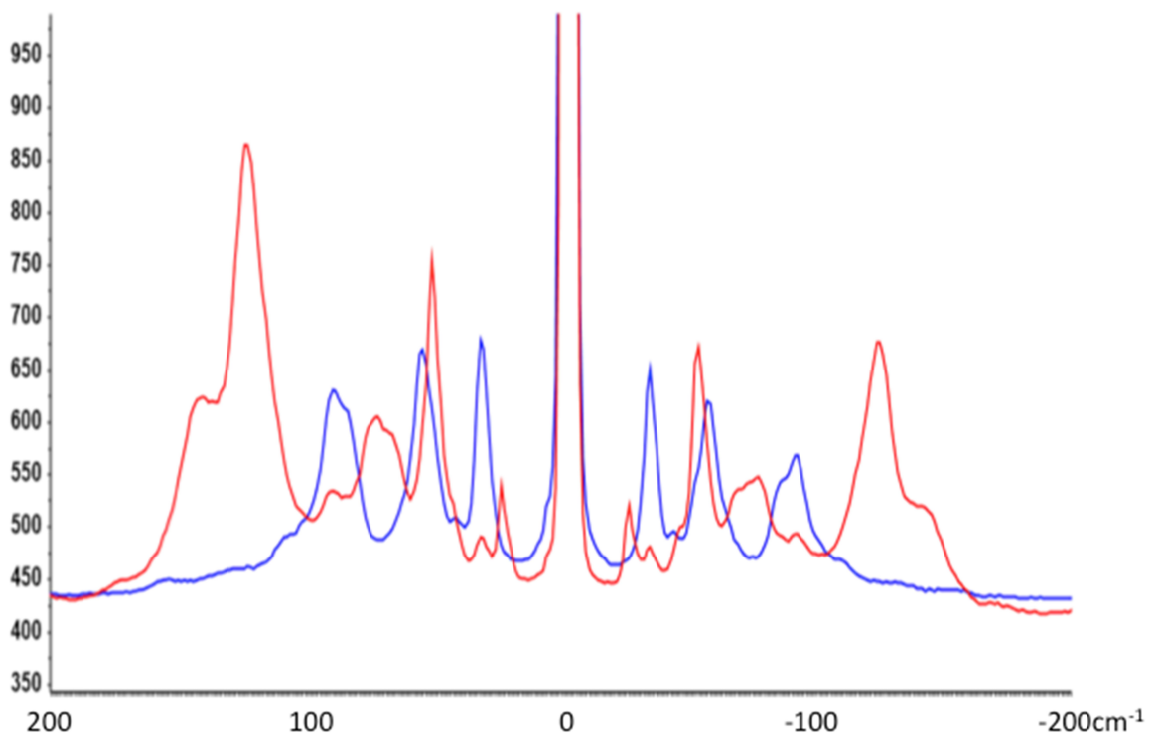


Fig.6 アセトアミノフェンのラマンスペクトル(超低波数)

Blue : Form 1, Red :Form 2



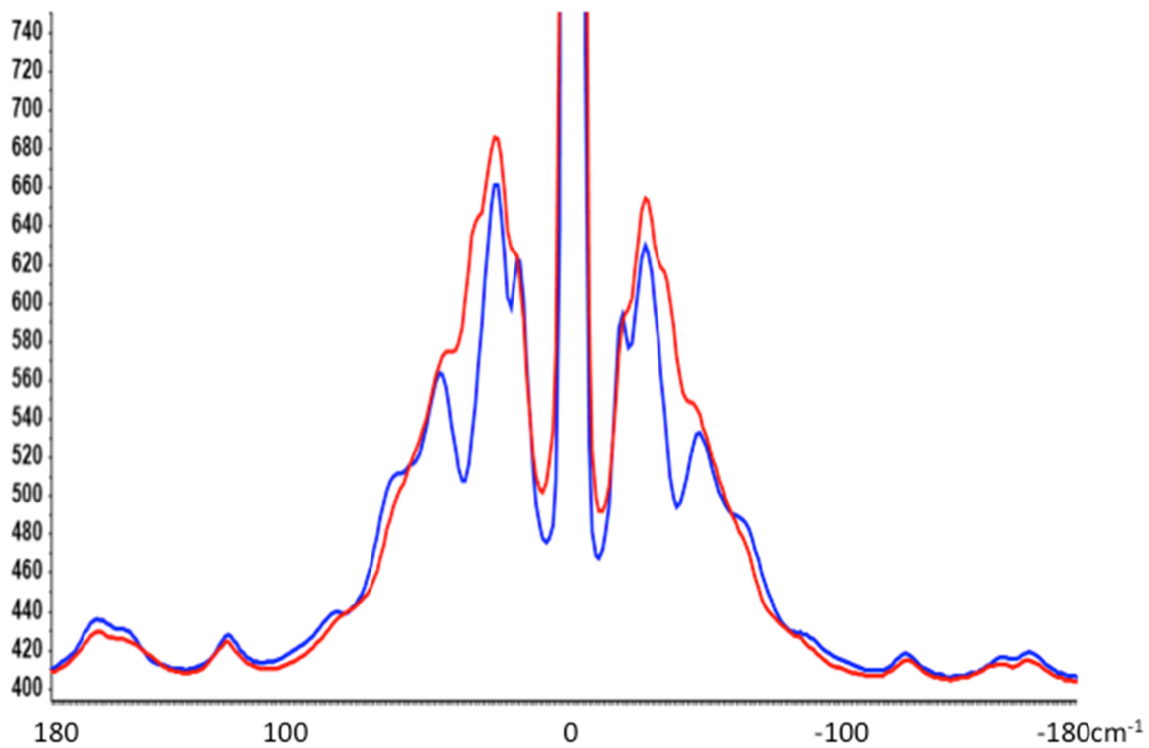


Fig.7 プロブコールのラマンスペクトル(超低波数)

Blue : Form 1, Red :Form 2

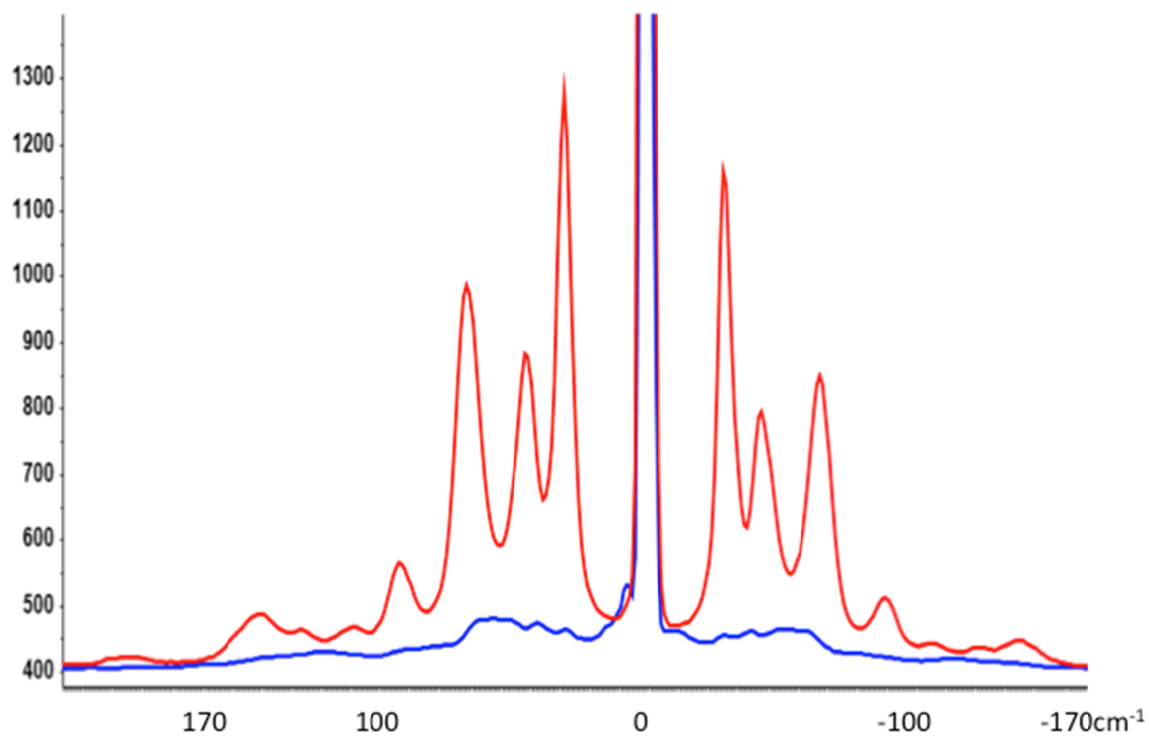


Fig.8 プロブコールのラマンスペクトル(超低波数)

Blue : Form , Red : Form

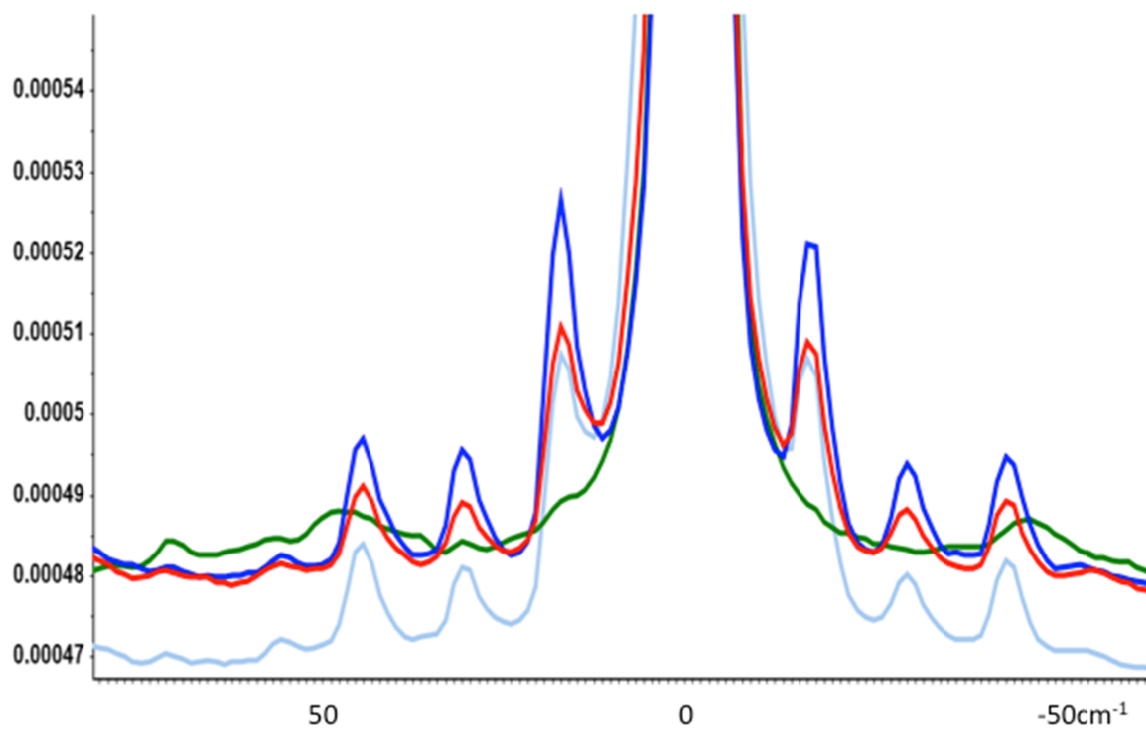


Fig.9 乳糖のラマンスペクトル(超低波数)

Blue, Light Blue, Red : Lactose monohydrate, Green : Lactose anhydrate