

《若手研究者紹介》



テラヘルツ分光法の製剤開発への適用

久 積 仁* Jin Hisazumi

第一三共株式会社製剤技術研究所

1. はじめに

幼少の頃からなぜか医療に興味があった私は、医者になるほど手先が器用ではないとの自己診断に基づき、医学ではなく薬学を志した（当時、ドラマや漫画で活躍する医者は決まって外科医であったので、私の中では医者＝外科医であり、例えば内科医がいることなど考えもしなかった）。京都大学薬学部に入學した私は、3年生の時、研究者としてその後の進路の大きい分岐点となる研究室配属を経験した。病に苦しむ患者さんを救いたいという思いが強かった私は、「がん治療」を目指した研究を行っていた病態情報薬学分野（高倉喜信教授主宰）の門を叩いた。修士課程に進学後、小林直樹博士（現 アステラス製薬株式会社）および川瀬篤史講師（現 近畿大学薬学部）と共に遺伝子送達を制御する研究に取り組んだ。本研究の一環として、プラスミド DNA の肝細胞への取り込みを評価するために、ラット肝細胞の初代培養を試みたがうまく行かず試行錯誤を繰り返した。失敗の原因を検証し打開策を考えて再び実験するというサイクルを何度も回し、これに成功した時の喜びは今でも忘れられない。ここでの経験が私の研究者としての基礎を構築してくれたことは間違いない。終始適切な助言を下さった高倉教授、

*2003年京都大学大学院薬学研究科修士課程修了。同年三共株式会社（現第一三共株式会社）入社。以降、現在に至るまで固形製剤の処方・製法開発研究に従事。2013年東邦大学にて博士号（薬学）取得。2014年パティクルデザイン賞受賞。信条：患者さんの苦しみを製剤工夫で少しでも和らげたい。趣味：ゴルフ（目指せ80台）、愛娘二人と遊ぶ。連絡先：〒254-0014 神奈川県平塚市四之宮 1-12-1
E-mail: hisazumi.jin.ad@daiichisankyo.co.jp

またビール片手に夜遅くまで議論にお付き合いいただいた小林博士および川瀬講師には大変感謝している。

2003年4月、三共株式会社に入社した私は、固形製剤の製剤化研究に従事することになった。大学とは異なる研究分野であり、原薬物性評価、処方研究、製法開発、製剤物性評価など、担当した業務すべてが未知の領域であった。職場が都会（東京都品川区）にあるという地理的な優位性を活かし、近場で開催される種々装置メーカー主催の講習会に頻繁に参加させていただき、各種物性評価法を学んだ。加えて、とにかくたくさん実験することで、なんとか一通りの製剤技術を身につけることができた。ただし、当時担当した開発品目は化学的に不安定な化合物が多く、製造工程中に水分や温度といったストレスを少なくする目的で直打法を選択することが多かったため、製剤研究者に必須の技術である造粒法をほとんど経験することができなかったのが残念であった。いつか流動層造粒機を使った製剤設計をマスターしたいと密かに考えているのだが、私が担当する品目はなぜか今でも直打法が多い。

2007年4月、第一三共株式会社の発足に伴い、神奈川県平塚市にて製剤化研究に従事することになった。私が所属することになった固形剤研究第二グループでは、リアルタイムリリース試験の実現に向けた製剤化研究を担当しており、Process Analytical Technology（以下、PAT）の実用化研究が本格的に始まろうとしていた。新しい技術に興味を持ってしまふ私は、業界内でも盛り上がりを見せるPATの発展に惹かれ、業務上必要性があったわけではないが分光法と多変量解析を勉強し始めた。幸運であっ

たのは、第一三共という会社が個人の積極的な挑戦を後押ししてくれる雰囲気であったこと（現在もこの雰囲気は継続している）、加えて同じ職場に気さくで割と頼りになるPATの専門家が揃っていたことであった。中川弘司博士、伊藤雅友博士、および田邊秀章氏には、分光装置の使い方から定量モデルの作り方まであらゆるノウハウをご教示いただいた。この場を借りて感謝の意を表したい。その後、グループ内にて結成されたPATチームにおいて、上記諸氏と共にリアルタイムリリース試験実現の一翼を担う機会を得ることができた。知恵を搾り高い目標に挑戦することのできた本業務は製剤研究者として充実した経験であった。

2. テラヘルツ分光法

PATで適用される分光法と言えば近赤外吸収スペクトル測定法（Near infrared spectroscopy, 以下NIR法）が最も一般的だが、当然ながらNIR法にも限界がある。例えば、NIR法は原子間振動を捉える感度に優れるが分子間振動（すなわち結晶多形）の検出性は高くない¹⁾。製剤開発においてPATを活用する場面は多様であり、NIR法を適用することが常に最適な選択というわけではない。NIR法の限界を補完するような特徴を持つ他の分光法を適用することで、より高品質な製剤開発を達成できるケースがある。そこで私はテラヘルツ分光法の製剤開発への適用をテーマに研究に取り組んだ。一般的に知られているテラヘルツ分光法の特徴は「非破壊で測定可能」「透過性が高い」「化合物固有のスペクトルを取得可能」であるが、これらの字面を読んだだけではテラヘルツ分光法の性能を理解することは難しい。以下、テラヘルツ分光法の応用の試みをいくつか紹介したい。

分光法を適用することで、試料固有の吸光度スペクトル（指紋スペクトル）を測定することができる。さらに、このスペクトル情報を解析することで、試料の定性的および定量的分析が可能である。ほとんどの指紋スペクトルは赤外線ほぼ全領域を含む0.5 THz以上の周波数領域に存在するため、テラヘルツ分光法ならびにNIR法を適用することで指紋スペクトルを得ることができる。また3 THz以下の周波数領域においては多くの試料が透明のため、テラヘルツ波は他の赤外領域の検出波と比較して透過性

が高い。すなわち、テラヘルツ分光法の0.5~3 THzの周波数領域はNIR法と比較して透過性が高く、かつNIR法と同様に指紋スペクトルの取得が可能と考えられる。実際に、禁止薬物や危険物の非破壊かつ非侵襲検査法への応用が期待されており、封筒内に入れられたコカインの検出など郵便物検査、空港での隠匿物検査、ならびに屋外での危険物探知の技術開発が行われている。また、テラヘルツ波は生細胞の水分量に敏感であることから、がん細胞イメージングへの応用の研究がなされている。特に、皮膚がん検査への有用性が着目されており、将来的にはがん細胞のオンサイト診断への応用が期待されている。製剤研究における適用例としては、錠剤内部からの反射波が検出器に届く時間差からフィルムコーティング錠のコーティング膜厚を求める研究が報告されている²⁾。この技術を活用しフィルムコーティング錠表面を網羅的に測定することで、コーティング層の膜厚をマッピングすることもできる。以下、テラヘルツ分光法の特徴をさらに深く検証すると共に、テラヘルツ分光法の製剤研究への応用例として、私が入り組んだ研究成果を紹介させていただきたい。

2.1 テラヘルツ透過法を適用した製剤に含まれる主薬結晶多形の定量分析

前述した通り、NIR法は原子間振動を捉える感度に優れるが分子間振動の検出性は高くないという限界がある。一方、テラヘルツ分光法は、低い周波数の分子内振動や分子間フォノン振動、具体的には結晶の分子間振動を捉えるため、有機分子の結晶多形に対して非常に敏感である。そこで、テラヘルツ分光法を使い製剤に含まれる主薬の結晶多形の定量分析を試みた。なお、結晶多形とは同一分子でありながら結晶中での分子の配列の仕方が異なるものと定義される。水和物は擬似多形とも呼ばれるが、International Conference on Harmonisation (ICH) guidelineに従い、水和物も結晶多形と定義する。

モデル化合物としてテオフィリン無水物およびテオフィリン一水和物を用いた。これら化合物をテラヘルツ分光法で測定した結果、テオフィリン無水物には0.98 THzに特徴的な吸収ピークが確認されたがテオフィリン一水和物には確認されなかった。製剤中の主薬含量（テオフィリン無水物と一水和物の合計量）は約30% (w/w)の一定とし、無水物と一

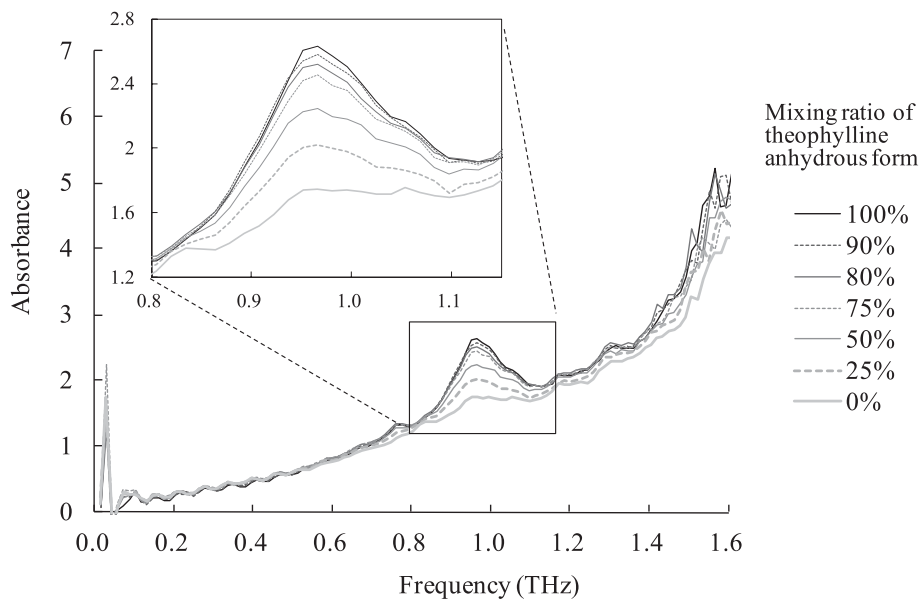


図1 テオフィリン錠のテラヘルツスペクトル
3つの錠剤をそれぞれ3回ずつ測定し平均することで各スペクトルを求めた。

水和物の混合割合を種々変え、結晶セルロースを賦形剤としてテオフィリン錠を作製した。これら製剤の吸光度スペクトル（テラヘルツスペクトル）においては、0.98 THzにテオフィリン無水物由来の特異的な吸収ピークが確認された。さらに、テオフィリン無水物の混合割合の低下に伴い、この0.98 THzの吸収ピーク強度も低下することが示された（図1）。そこで、0.98 THz周辺の周波数領域を使い多変量解析することで、テオフィリン無水物の混合割合を予測する定量モデルを作成した。本モデルはクロスバリデーション標準誤差（RMSECV）が2.89%、重相関係数が0.9927であり、予測精度の良好なモデルであることが示された。以上の結果より、テラヘルツ透過法を用いることで、製剤中に含まれる主薬の結晶形の混合割合を、非破壊的に精度よく定量分析できることが示された³⁾。

2.2 テラヘルツイメージング技術を適用した製剤に含まれる主薬結晶多形の分析

テラヘルツイメージングは反射法もしくは透過法を使う二つの技術に大別される。反射法を使ったイメージング技術の適用例として、前述した通り、製剤のフィルムコート層の厚みを測定した研究成果が報告されている²⁾。製剤に多層のフィルムコーティングが施されている場合、各層の界面からの反射波は時間波形において時間軸上で分離表示され、これら時間差を使うことで、フィルムコート膜厚を算出

することができる。ただし反射法を使ったイメージング技術は、時間波形から物理的な距離情報を取得することには適しているが、反射波強度が弱く化学的な吸光度スペクトル情報の取得が難しい。一方、透過法を使ったイメージング技術は化学的な吸光度スペクトル情報の取得が容易である。そこで、本研究においては透過法を使ったイメージング技術を適用し、製剤に含まれる主薬の結晶多形の同定を試みた。

前述の検討と同様、モデル化合物としてテオフィリン無水物およびテオフィリン一水和物を用いた。結晶セルロースを賦形剤として、テオフィリン無水物ならびに一水和物を主薬として含む製剤をそれぞれ作製した。無水物製剤を25°C/84%RH、一水和物製剤を25°C/45%RHにて保存した。テラヘルツイメージング測定で得られたケミカルマッピングより、これら製剤中におけるテオフィリン無水物から一水和物、ならびに一水和物から無水物への結晶転移は、いずれも製剤の表面から始まり経時的に中心部へと進行することが示された（図2）。さらに、速度論的解析から、これら結晶転移が界面律速型モデルに合致することが示された。製剤の製造工程や保存中に、物理化学的ストレスや熱ストレス、または水の影響により、製剤中において局所的にもしくは均一に結晶転移が発生し進行する可能性が考えられる。製剤中の主薬が結晶転移を起こすことで、保存後の製剤

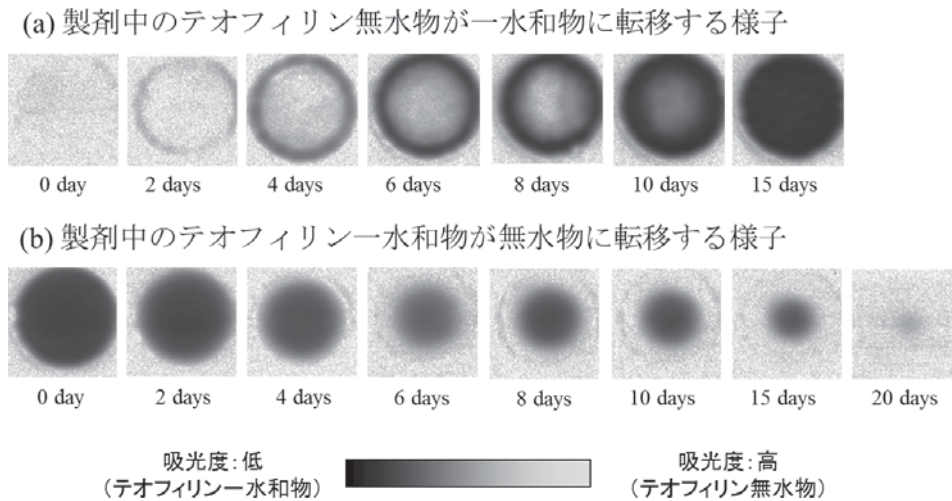


図2 テオフィリン錠のケミカルマッピング

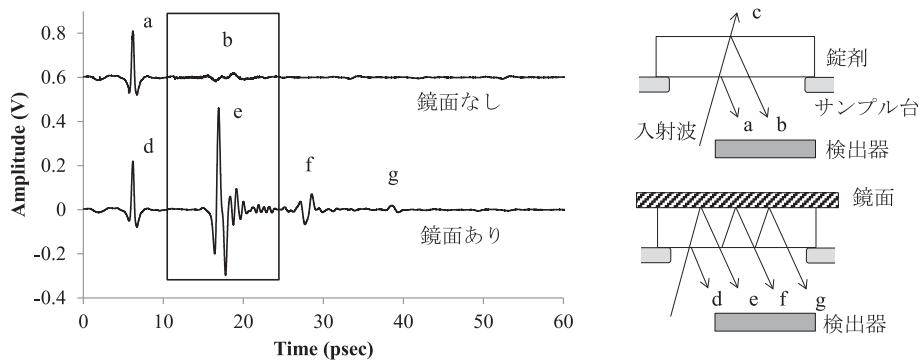


図3 テラヘルツ反射法で求めたマンニトール錠の時間波形

の溶出速度の低下や不純物の増加など、製剤の医薬品としての性能が影響を受けることがある。本研究結果よりテラヘルツイメージング技術は、結晶転移を視覚的および定量的に検知することで、製剤開発におけるこれら問題を解決に導くための有用なツールになると考えられた⁴⁾。

2.3 テラヘルツ反射法を適用した製剤中の主薬の定量分析

打錠工程のインライン測定に分光法を適用する場合、検出器は製剤に対して入射波と同じ側に位置する必要があるため、反射法が採用される。NIR 拡散反射法を適用した場合、製剤内部における入射波の浸透深さは非常に浅く数百 μm 程度と考えられる。すなわち、NIR 拡散反射法は、検出できる部位が製剤の表層部分に限られるため、製剤中において主薬が均一に分散していない場合には適用が難しい。製剤をテラヘルツ反射法で測定した場合、透過性が高

いため、テラヘルツ波の入射面である製剤表面に加えて入射面とは反対側の製剤表面からの反射波も検知することができる。そこで、本研究においては、テラヘルツ反射法を適用し入射面とは反対側の製剤表面からの反射波を使うことで、製剤の表層部分に限らず内部の情報を使った定量分析を試みた。

テラヘルツ反射法を適用し、錠厚 1.49 mm のマンニトール錠を測定して時間波形を取得した (図 3)。この時間波形において、X 軸は検出器が反射波を検出した時間、Y 軸は反射波の強度を表す。図中 b で示される製剤の上部からの反射波の時間範囲のみ抽出しフーリエ変換を実施することでテラヘルツスペクトルを取得した。しかし、マンニトールに特異的な吸収ピークを検出することはできず、ピーク b の強度が弱いことが原因と考えられた。また、ピーク b の強度が弱いのは、製剤の上部における反射率が低く、入射波の大部分は製剤を透過し、反射波

として検出されるのは入射波のわずか一部であることに起因すると考えられた。そこで、透過するテラヘルツ波を検出し反射波の強度を向上させることを目的として、図3（鏡面あり）に示すように、テラヘルツ分光装置で鏡面として汎用されるアルミニウム板を製剤の上面部に設置した。図中eで表される製剤の上面部からの反射波のみ抽出し、フーリエ変換することで、マンニトールに特異的な吸収ピークを示すテラヘルツスペクトルを得ることができた。次に、本手法を用いてテラヘルツ反射法の定量分析への適用可能性を検証した。マンニトールを賦形剤とし、サリチル酸ナトリウムを主薬として含有する製剤（主薬含有率は約7%（w/w））を作製し、テラヘルツ反射法で測定することでテラヘルツスペクトルを得た。含量の異なるサリチル酸ナトリウム錠のテラヘルツスペクトルを多変量解析し、定量モデルを作成した。本モデルのRMSECVは1.95%、重相関係数は0.9897であり、良好な精度で定量予測できるモデルであると考えられた。なお本検討では鏡面としてアルミニウム板を用いたが、打錠用の杵の一般的な材質はスチールである。アルミニウム板およびスチール板を用いた場合で、ほとんど同一のテラヘルツスペクトルを得られることは確認済みのため、テラヘルツ反射法を打錠工程のインライン測定に適用する場合は下杵の表面がアルミニウム板に代わって鏡面の役割を果たすと考えられた。以上の検討結果より、本技術は打錠工程における全単位ユニットのインライン測定に適用できる可能性が示された⁵⁾。

2.4 その他、テラヘルツ分光法を使った検討

今回、「若手研究者紹介」への投稿という機会をいただいたので、研究成果だけではなく研究に対する私自身の理念・姿勢についても少し紹介させていただきたい。上述の研究成果は事前に想定していた通りの実験結果が得られた事例である。一方、残念ながら想定通りの結果が得られなかった検討も実は多々ある。以下に一例を示す。

ある二層錠の開発において打錠工程中の層間コンタミが問題となった。打錠工程にて、顆粒が充填されたフィーダーから漏洩し、打錠機のターンテーブル上を移動して他のフィーダーに混入することで他層への顆粒コンタミが発生した。この混入を定量的に分析する技術としてテラヘルツ分光法に着目し

た。他の分光法とは異なるテラヘルツ分光法の特徴として波長の長さを挙げるができる。適用する波数領域にもよるがNIR法の波長が数 μm であるのに対して、テラヘルツ分光法の波長は数十 μm ～数mmと長い。分光装置の全反射法では、エバネッセントフィールドと呼ばれる透過波がサンプル深部に達するが、この到達深度は測定波長に等しい。テラヘルツ分光法の全反射法を使うことで、二層錠の片側の層の広い範囲の情報を得ることができる。すなわち、片側の層のみ測定することでコンタミした他層の成分を定量できると考えた。しかし、使用したテラヘルツ分光装置の性能では定量解析に十分なS/N比が得られず断念せざるを得なかった。

本検討では成果を上げることができず悔しい思いをしたが、テラヘルツ分光法の全反射法を使うことで得られる情報にどのような限界があるかを知ることができた。想定通りの結果が得られなかったことは「失敗」とは限らない。そこから何を得られるか、次の検討に活かせる種が潜んではいないか、深く考える過程を大切にしたいと常々考えている。本検討から得られた知見についてもいつか製剤研究に活用したいと考えている。

3. おわりに

本研究成果より、テラヘルツ分光法はNIR法と同様に非破壊で迅速に製剤の品質を測定することが可能であり、インラインモニタリング法としての適用可能性を検証することができた。特に、NIR法が不向きとされる高い透過性と分子間振動（結晶多形）の検出が求められる試料の測定にはテラヘルツ分光法がその威力を発揮することを示した。今後、テラヘルツ分光法を適用したPAT技術の開発が進展することで、より進んだ工程管理ならびに頑健な品質保証が達成されることを期待する。さらに、テラヘルツ分光法を製剤の処方および製法検討に適用することで、より高品質な製剤設計が達成されると確信する。

最後に、製剤開発における分光法とりわけテラヘルツ分光法の適用が私の得意とするところである。もしこの分野に興味をお持ちであれば、いつでも相談に乗るので、お声を掛けていただきたい。

引用文献

- 1) 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).
- 2) J. A. Zeitler, Y. Shen, C. Baker, P. F. Taday, M. Pepper, T. Rades, Analysis of coating structures and interfaces in solid oral dosage forms by three dimensional terahertz pulsed imaging, *J. Pharm. Sci.*, **96**, 330–340 (2007).
- 3) J. Hisazumi, T. Suzuki, H. Nakagami, K. Terada, Quantification of pharmaceutical polymorphs and prediction of dissolution rate using theophylline tablet by terahertz spectroscopy, *Chem. Pharm. Bull.*, **59**, 442–446 (2011).
- 4) J. Hisazumi, T. Suzuki, N. Wakiyama, H. Nakagami, K. Terada, Chemical mapping of hydration and dehydration process of theophylline in tablets using terahertz pulsed imaging, *Chem. Pharm. Bull.*, **60**, 831–836 (2012).
- 5) J. Hisazumi, T. Watanabe, T. Suzuki, N. Wakiyama, K. Terada, Using terahertz reflectance spectroscopy to quantify drug substance in tablets, *Chem. Pharm. Bull.*, **60**, 1487–1493 (2012).