

ラマンイメージングを用いた低用量錠剤の結晶多形評価

キーワード

DXRxiイメージング顕微ラマン、医薬品有効成分、医薬品、多形、ラマンイメージング、チボロン

目的

ラマンイメージングを用いて、低用量錠剤中の有効成分の空間分布を評価し、結晶多形の識別を行います。

はじめに

医薬品産業においては、製品製剤中の医薬品有効成分（API：Active Pharmaceutical Ingredient）を確認することが必要です。いくつかのAPIは薬の機能的挙動に影響を及ぼす異なる構造形に変化することがあります。溶媒和物、多形、結晶化度および塩構造は全て、APIの構造変化が起こりうることを示しています。これらの変化は薬の送達度合いや、その治療有効性に影響を与える可能性があります。製剤中の成分分布の均一性は、製剤の開発や製造過程において大変重要な因子です。さまざまな製造過程において、製剤の性質やAPIの分布が変化する可能性があり、このため各過程の後、最終製品になる前に製品の確認を行うことが重要となります。

ラマン分光法は分子構造に基づく詳細情報や化学的環境の情報を得るだけでなく、同定や成分確認にも用いることができ、よく似た材料を識別することができます。例えば、同じ化合物でありながら異なる結晶形である結晶多形を識別することができます。特定の多形の存在は、結晶化状態やさまざまな形（フォーム）の安定性に影響を与える可能性があります。結晶多形は治療有効性が異なるので、製造過程においてある結晶形が別の結晶形に転換する可能性があることに注意が必要です。さらに、もしある多形が特許の対象で、他方がそうでないならば、知的財産の問題が発生するかもしれません。ラマンイメージング測定装置は強力なイメージングおよび分析ツールが搭載され、非常に有用なスペクトル解析機能を備えることにより、サンプルの広範なイメージを作成することができます。

ラマン顕微分光は非常に小さなサンプルの分析に用いることができます。医薬品製剤の場合、サンプル自体は必ずしも小さくはありませんが、API（もしくは他の成分）は微量しか存在していない可能性があります。シングルポイントラマン分光法は、サンプル内の特定の位置のスペクトル測定に優れていますが、サンプル中の目的位置を見つけたり、サンプル全体を表現するのは常に簡単ではありません。スポットサイズが大きいと、サンプルの広い範囲をカバーすることができますが、スペクトルに多くの成分が重畳します。それでも、さまざまな成分の重畳するスペクトル



を解釈することは可能かもしれませんが、一部の空間情報は失われます。ラマンイメージングを用いることで、空間情報を保持しながらサンプルの全体像を得ることができ、低濃度成分の評価、成分の均一性や空間分布の評価の際に有用に活用することができます。ラマンイメージングは、膨大な量のスペクトルデータを迅速に測定することができ、解析効率の向上により、サンプルの統計的な解析を行うことができます。

測定装置

ラマン測定には、Thermo Scientific™ DXR™xiイメージング顕微ラマンと付属のThermo Scientific™ OMNIC™xiラマンイメージング用ソフトウェアを用いました。本製品は、非常に高速にラマンスペクトルを測定できるよう開発された、Thermo Scientific™ DXR™ ラマンシリーズの進化を象徴する装置です。測定のスPEEDアップは広範囲のラマンイメージング測定を実用的なだけでなく、日常的（ルーチン）なものにします。本製品は、従来のDXR顕微ラマンと同様のオートアライメントや機器校正機能、ユーザー交換可能部品（レーザー、フィルター、グレーティング）を搭載していますが、高感度なEMCCD (Electron Multiplying CCD) 検出器に同期するリニアモーター高速ステージを搭載しています。これらの正確で信頼性の高い部品により、非常に短時間で多量のデータを得ることができます。OMNICxiソフトウェアは、イメージング測定のために特別に開発されたソフトウェアであり、多量のデータを取り扱うために便利で使いやすいグラフィックインターフェースを搭載しています。



図1. DXRxiイメージング顕微ラマン。

データ測定の新しいオプションとして、目的の重要なエリアがどこに位置するのかを迅速にスクリーニングする機能が搭載され、測定条件の最適化や、単一または複数の領域測定、もしくは自動領域測定を簡単に行うことができます。ソフトウェアには有用なラマンイメージを作成するために、強力なデータ解析機能が搭載されています。

ラマンイメージング測定結果

本書では、比較的低濃度のAPIを持つ錠剤を用いたラマンイメージングの測定例をご紹介します。多くの医薬品製剤に共通するこのようなタイプの製品の分析で求められることは、錠剤の大部分がAPIであるような製品とはやや異なります。今回の分析に用いたサンプルは、チボロンの錠剤です。チボロンは、閉経後の女性のホルモン補充療法に用いられる合成ステロイドです。チボロンには異なる結晶多形が存在することが知られており、単斜晶系および三斜晶系の両方で結晶化することが報告されています。錠剤中チボロンの濃度は、非常にわずかでした（3 wt%）。分析の目的は、錠剤中チボロンの同定、チボロンの空間分布表示、錠剤中に異なる結晶形が存在するかどうかの確認です。このサンプルは、このようなタイプの試料にラマンイメージングが利用でき、この方法で他のタイプの試料へも応用できることを示す例として選択しました。

測定のための最初のステップは錠剤全体のラマンイメージ作成です（図2A）。

このイメージは25 μm 間隔、52,000スペクトルのデータを用い、MCR解析で得られたものです。錠剤を構成している賦形剤のラマン活性が低く、APIの濃度が低いため、比較的ゆっくりした測定間隔（50 Hz、20 ms/スペクトル）で10回積算を行いました。

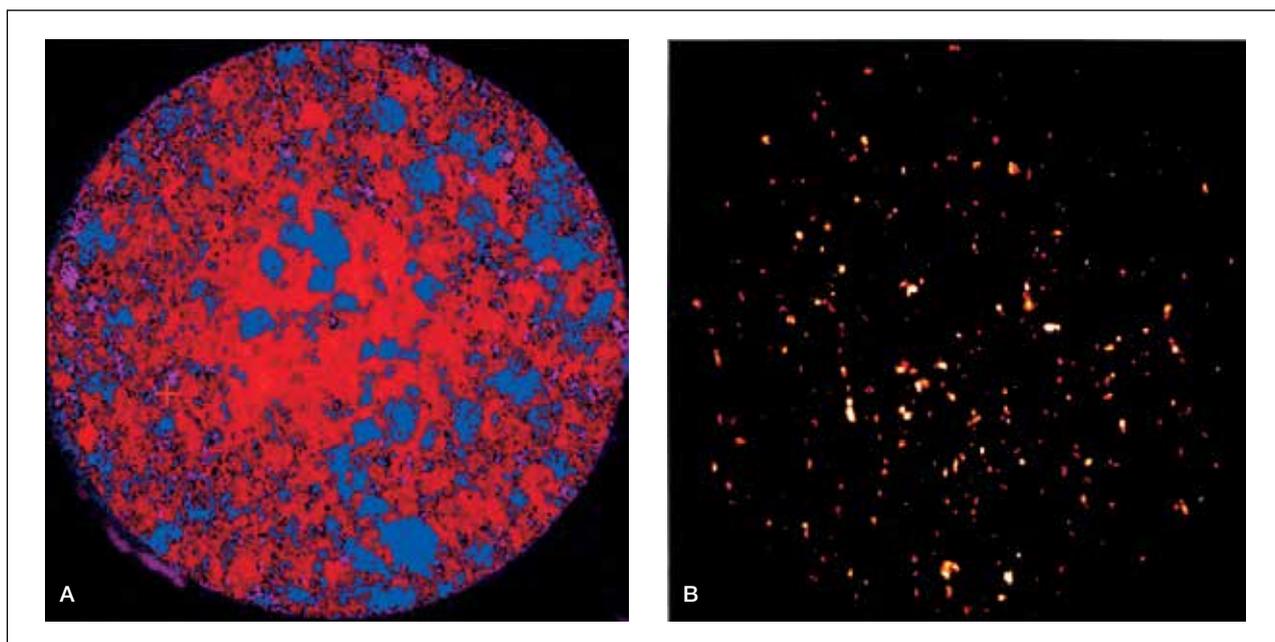
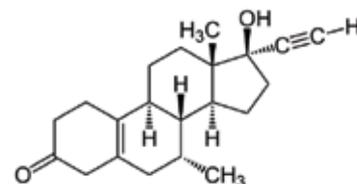
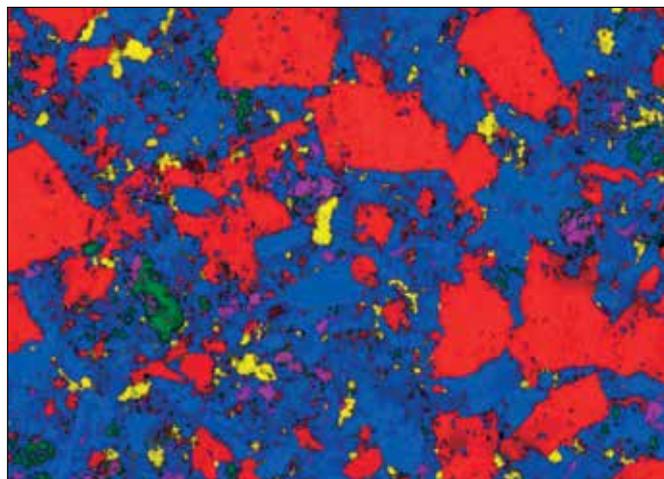


図2. (A) チボロン錠剤全体のMCR解析イメージ：赤-でんぷん、青-乳糖、赤紫-蛍光の強い粒子。
(B) チボロンスペクトルの $2,102\text{ cm}^{-1}$ ピーク高さによるイメージ。錠剤中チボロンの分布を表す。

錠剤のイメージを得るのにかけた時間はおよそ3時間でした。10倍の対物レンズおよび、532 nmレーザーを用いて測定しました。今回の場合、錠剤の大部分は2種の賦形剤であることが分かりました。赤部分ではんぷんで、青部分は乳糖を表します。錠剤中チボロンは $2,102\text{ cm}^{-1}$ ピーク高さをを用いてラマンイメージを作成することで明瞭に観察することができました。図2Bは錠剤全体におけるチボロンの分布を表し、APIの分布を可視化することができたものの、異なる結晶形を検出するには不十分でした。

結晶多形の存在の評価向上には、さらに高空間分解能のイメージ測定が効果的ではないかと考え、測定を行いました。図3はサンプルの約 $1.1 \times 1.6\text{ mm}$ エリアのラマンイメージです。

このイメージは、 $5\text{ }\mu\text{m}$ 間隔、75,000スペクトルで構成されています。50 Hz、25回積算で、およそ10時間の測定を行いました。測定エリアの大きさは、錠剤全体の統計解析を行うのに十分なサイズでなくてはなりません。より高空間分解能のこのイメージで、チボロン分布をより明瞭に評価することができます。さらに、チボロンの2種の結晶形の検出も行うことができました。図4は、2つの結晶形の空間分布を表します。チボロンのスペクトルにおける結晶形の違いの確認は、それぞれ単一結晶形のラマンスペクトルを測定比較することにより行いました。



チボロンの化学構造

図3. チボロン錠剤上任意エリアのMCR解析イメージ。青と緑が乳糖を表し、赤がでんぷんを表す。赤紫部分は蛍光が強く、黄部分はチボロンを表す。

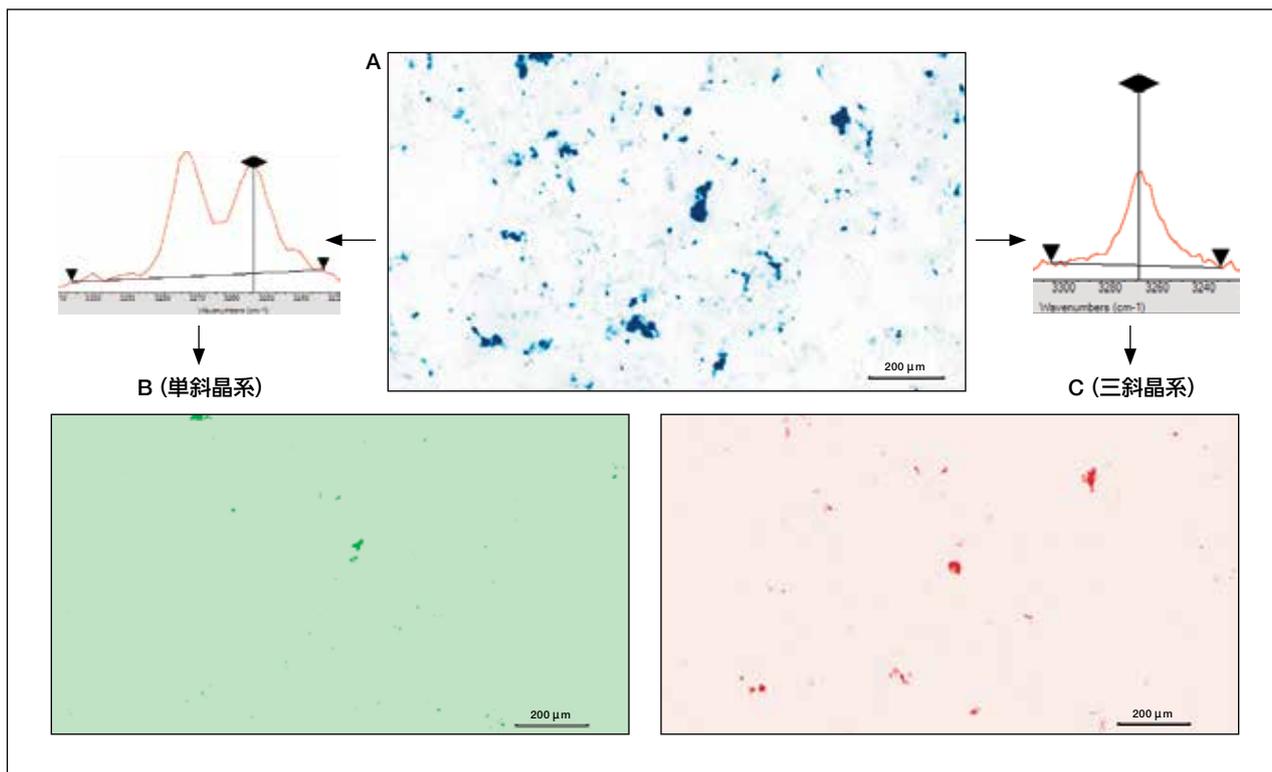


図4. チボロンの結晶多形分布。ピーク高さにより解析したチボロンの異なる結晶形のイメージ。(A) 全てのチボロン、(B) フォームI (単斜晶系)、(C) フォームII (三斜晶系)。

2つの結晶形を区別するには、ピーク高さのプロファイル解析がMCR解析よりも効果的でした。これは結晶多形のスペクトルの違いがわずかであり、API濃度が低いためであると考えられます。結晶多形のスペクトルの違いは、全データ中に観測されるスペクトル全体に寄与するには大変小さく、このためMCR解析では簡単には検出できませんでした。しかしながら、ソフトウェアにはいくつかのプロファイル選択機能が搭載されているため、特定のデータセットに対して最適に解析できるプロファイルを選択することができます。錠剤中のAPI空間分布を評価するだけであれば最初のイメージで十分ですが、結晶多形の識別においては、良質なスペクトルおよび、より高空間分解能のイメージを用い、詳細な解析評価が必要です。

まとめ

本書では、ラマンイメージングを用いてAPI濃度のかなり低い医薬製品（多くの医薬製品に当てはまるケース）の分析をどのように行うかについてご紹介しました。ラマンイメージングを用いることで、APIや賦形剤の分布状態確認および成分同定を簡単に行うことができます。錠剤全体のイメージ取得のスピードは、従来のラマンマッピングに比べ大きく向上し、この種の分析をより実行的に行うことができます。ラマンイメージングは、APIの同定や空間分布の測定に用いることができるだけでなく、結晶多形のようなより詳細なスペクトル分析を行うこともできます。DXRxiイメージング顕微ラマンは、分析課題の解決に有用なラマンイメージングの能力を搭載し、OMNICxiソフトウェアには、ラマンイメージの測定および解析に柔軟で便利なインターフェースを搭載しています。

研究用のみ使用できます。診断用には使用いただけません。
© 2014, 2022 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved.
All trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific and its subsidiaries unless otherwise specified.
実際の価格は、弊社販売代理店までお問い合わせください。
価格、製品の仕様、外観、記載内容は予告なしに変更する場合がありますのであらかじめご了承ください。
標準販売条件はこちらをご覧ください。thermofisher.com/jp-tc FTIR010-B2209CE

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

分析機器に関するお問い合わせはこちら

TEL: 0120-753-670 FAX: 0120-753-671

Analyze.jp@thermofisher.com

facebook.com/ThermoFisherJapan

@ThermoFisherJP

thermofisher.com