NIR による造粒及び打錠時の医薬品の結晶状態評価

Application of NIR Spectroscopy for Evaluation of Crystalline State in Granulation and Tableting Process

寺田 勝英, 高田 洋子, 吉橋 泰生, 米持 悦生

Katsuhide Terada, Yoko Takada, Yasuo Yoshihashi, Etsuo Yonemochi

Received 8 April 2005 : Accepted 4 July 2005

The crystalline state of drug substance, such as polymorphic forms and crystallinity, in the manufacturing process was analyzed by the Near Infrared Spectroscopy (NIR) calibrated with a set of blend mixture of polymorphs and amorphous samples. The crystalline state of drug substance in the mixture and the tablet was well analyzed by the NIR spectroscopy. However, the crystalline state of drug substance in the granule was determined only when there were no molecular interactions between the drug substance and the excipient since molecular interaction inhibited the accurate evaluation of crystalline state. Chemometrics and spectroscopic measurements will be a useful tool for the evaluation of crystalline state in dosage form when no molecular interaction occurs in the manufacturing process.

Keywords : Process analytical technology, Polymorphs, Crystallinity, Near infrared spectroscopy, Solid state NMR

1. はじめに

固形製剤は、粉碎、混合、造粒、打錠などさまざまな工程を経て最終製剤が製造される。製剤として一定の品質を保つためには、最終製剤中で主薬が常に一定の状態で存在することが重要となる。FDA (Food & Drug Administration) は、新たな医薬品の品質保証の考え方として、PAT (Process Analytical Technology) を提唱している¹⁾。この考え方は、品質を最終製品として保証するのではなく、製造の各工程で、所期の目的とした品質が保たれていることを保証することと理解される。そのためには、製造工程中の重要工程において、製剤が同じ物理化学的状态を保っていることを何らかの分析手法でモニターしながら、最終製剤の品質を保証する必要がある^{2~4)}。製剤工程をモニタリングする方法として、NIR (Near Infrared

Spectroscopy) が注目されている^{5~7)}。しかしながら、今までに行なわれている NIR 法は、主薬含量の定量が主であり、結晶多形や結晶化度などの物性評価についてはほとんど報告されていない。また、原薬の結晶多形、結晶化度をモニターする研究は工業晶析プロセスの分野で行われているが^{8~10)}、製剤中での原薬の状態を評価する研究までには至っていない。

固体医薬品の製造過程で、主薬の均一性に影響する重要工程としては、混合、造粒、打錠などの工程が考えられる。また、製剤の溶出性などの機能に影響するのは打錠及び造粒工程と考えられる。このような製造工程は、製剤の品質に大きく影響することが考えられるが、工程中で所期の結晶状態が保たれているかどうかを評価するまでには至っていない。

本研究では、製剤中の結晶多形や結晶化度のモニタリングの基本となる、NIR による製剤中の結晶多形や結晶化度の定量性の検討を行った。すなわち、打錠工程を想定して錠剤中での結晶多形や結晶化度の定量、さらには、造粒工程を想定して顆粒中の主薬の結晶化度や結晶多形の定量的評価を行なった。製剤中の結晶状態の評価は、迅速測定を目的として主に NIR

第42回粉体に関する討論会(2004年9月、岐阜)にて一部発表
東邦大学薬学部

(〒274-8510 船橋市三山2-2-1) TEL 047-472-1337
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Toho University
(2-2-1 Miyama, Funabashi, Chiba 274-8510, Japan)

で行い、同時に、NIR 法が適正であることを確認するために、定量的評価の指標として固体 NMR による評価も行った。

2. 実験

2.1 試薬とサンプル調製

医薬品には結晶多形と非晶質が容易に調製できるテルフェナジンをモデル化合物に選んだ。テルフェナジンの結晶多形は、Selem 等の方法¹¹⁾により調製した。すなわち、I 形結晶は n-ブタノールより再結晶、II 形結晶は酢酸エチルから再結晶した。また、非晶質は融解物急冷法により調製した。それぞれの結晶多形は、DSC 及び粉末 X 線回折、非晶質は粉末 X 線回折により確認して用いた。

2.2 物理的混合物あるいは錠剤中のテルフェナジンの定量性

処方（乳糖：デンプン＝7：3）中に主薬含量が 3wt % 及び 10wt % となるように、種々の結晶化度のサンプルを調製した。また、混合試料 300mg を圧縮圧力 1t/cm² で直径 13mm の錠剤に成形し測定試料とした。錠剤は、各々 5 錠ずつ作製した。

2.3 噴霧造粒物の調製

種々の結晶化度を有する造粒製剤を調製するために、スプレードライヤー（パルビスミニベッド GA-31 型、ヤマト科学）を用いて、噴霧造粒を行なった。添加剤として、有機溶媒に溶解できるカルボキシメチルエチルセルロース（CMEC）を選択した。主薬含量を 30wt % とし、噴霧造粒物を調製した。テルフェナジンと CMEC を蒸留水またはジクロロメタンに懸濁及び溶解し、吸気温度 90℃～135℃、排気温度 40℃～45℃、送液速度 12～25ml/min の条件で噴霧造粒を行なった。試料 W1～W3 は、CMEC 4.5g を溶解させた蒸留水 3l に、テルフェナジンを振動ミルで、それぞれ 1 分、4 分、10 分粉碎したものを 1.5g 懸濁させて噴霧造粒を行なったもので、試料 D1, D2 は、テルフェナジン原末 1.5g をジクロロメタン 200ml に溶解させ、CMEC 4.5g を溶解させた蒸留水 0.8l と混合した溶液を、送液速度を 12 及び 25ml/min でそれぞれ噴霧造粒を行なったものである。

2.4 NIR 及び固体 NMR 測定：

NIR 測定は、NIR Systems 6500 Rapid Content Analyzer を用い、測定波長 1100nm～2500nm の範囲で測定した。また、固体 NMR は Chemagnetics CMX-400 を用い CP/MAS (Cross polarization & magic angle spinning) 法により測定した。

Fig. 1 NIR spectra of polymorphic forms and amorphous form of terfenadine

3. 結果及び考察

3.1 NIR による物理的混合物中のテルフェナジン結晶多形及び結晶化度の定量

Fig. 1 に、テルフェナジンの結晶多形と非晶質の NIR スペクトルを示す。結晶多形 I 形及び II 形は類似したスペクトルとして認められたが、非晶質とは、図に示すように、OH、CH の領域に明確なスペクトルパターンの違いが認められた。そこで、まず I 形結晶と非晶質のみの物理的混合物（結晶化度 0～100 %）を調製して、NIR による結晶化度の定量性について検討した。検量線作製に用いた試料数は、6 種類の混合比で各々 10 本ずつ作成し、NIRS により 5 回ずつ測定した。混合試料の拡散反射スペクトルに対する粒度の影響を除くため、2 次微分を行った NIR スペクトルを求めた¹²⁾。その結果を Fig. 2 に示す。結晶化度の違いにより、1670nm、2072nm などの波長領域で結晶化度に伴うピーク強度の変化が認められた。1670nm の吸収は C-H の第 1 倍音、2072nm の吸収は OH 基の伸縮振動と変角振動の結合音と推察された。大きなスペクトル変化の認められた 2072nm と 1670nm で検量線を求めた。さらに、測定値に結晶化度以外の変動や誤差をできるだけ取り除くことを目的として、それぞれの 2 次微分値を 1584nm、2022nm における 2 次微分値で除して補正した値も求めた。この分母となる波長は、吸光度の変動が小さく、結晶化度の影響が見られない波長として選択した。

Table 1 に、得られた Multivariate Linear Regression (MLR) 法による検量線の相関係数 (R²) と検量線標準誤差 (SEC) を示した。このことから、単位操作で I 形結晶が非晶質になる際には、テルフェナジン分子の O-H 基及び C-H 基の分子間相互作用が変化

Fig. 2 2nd derivatives of NIR spectra of polymorphs and amorphous form of terfenadine

Table 1 Correlation coefficient and standard error of calibration curves of terfenadine powder mixture analyzed by MLR and PLS

Sample	10wt %		3wt %		5wt %	
	form I & amor.		form I & amor.		form I, II & amor.	
	R ²	SEC	R ²	SEC	R ²	SEC
MLR λ1 1670 (nm)	0.9960	2.24	0.9787	5.06	0.8965	10.1
MLR (λ1/λ2)	0.9984	1.44	0.9901	3.45	0.9915	2.89
	λ2 2246nm		λ2 2018nm		λ2 1660nm	
PLS 3factors	0.9982	1.56	0.9856	4.32	0.9890	3.33
PLS 4factors	0.9984	1.52	0.9953	2.52	0.9951	2.22

するものと推定され、それが良好な結晶化度の定量性に結びついたものと判断された。さらに、Partial Least Square (PLS) による解析についても行い、得られた相関係数と検量線標準誤差を示した。いずれも、予めⅠ形結晶と非晶質を物理的に混合して調製して得た結晶化度と、それを NIR で予測した結晶化度との間に非常により相関性が認められた。

3. 2 NIR による製剤中のテルフェナジン結晶多形及び結晶化度の定量

次に、調剤中のテルフェナジンの結晶化度を求めるため、乳糖とデンプン（7：3）を添加剤として用い、Ⅰ形結晶と非晶質の 2 成分混合系としてテルフェナジン含量 3wt % 及び 10wt % の混合粉末、及びそれを圧縮成形した錠剤について、NIR による結晶化度の定量性の検討を行なった。Table 2 の左から二つのカラムに示すように、Ⅰ形結晶と非晶質の 2 成分系混合物では、主薬含量 10wt % において、測定波長として C-H 基の第 1 倍音領域である 1670nm を選択し、吸光度が結晶化度の影響を受けない 1126nm で除した

場合に $R^2=0.997$, SEC = 1.79 % 程度の高い相関が得られ、テルフェナジンの結晶化度に対して添加剤の影響をあまり受けずに測定できた。さらに、主薬含量が 3wt % においても、吸光度が結晶化度の影響を受けない 1204nm で除した場合に、 $R^2=0.982$, SEC = 4.77 % 程度の相関が得られた。また、PLS を用いた場合には、さらに良好な相関関係が得られた。

テルフェナジンのⅠ形結晶、Ⅱ形結晶及び非晶質の 3 成分系について、主薬含量 5wt % で物理的混合物あるいは錠剤中の結晶多形と結晶化度を評価した。Table 2 の右側のカラムに示すように、結晶化度の評価は 3 成分系においても 2 成分系同様の評価ができるものの、結晶多形含量については結晶多形Ⅰ形とⅡ形のスペクトルが類似しているため評価精度は低下した。

3. 3 固体 NMR による錠剤中のテルフェナジン結晶多形の定量

CP/MAS 法により測定して求めたテルフェナジン結晶多形の固体 NMR を Fig. 3 に示す。テルフェナジン

Table 2 Correlation coefficient and standard error of calibration curves of terfenadine tablets analyzed by MLR and PLS

Sample	10wt %		3wt %		5wt %	
	form I & amor.		form I & amor.		form I, II & amor.	
	R ²	SEC	R ²	SEC	R ²	SEC
MLR $\lambda 1$ 1670 (nm)	0.9966	2.03	0.9432	8.50	0.9761	4.73
MLR ($\lambda 1/\lambda 2$)	0.9973	1.79	0.9821	4.77	0.9894	3.14
	$\lambda 2$ 1126nm		$\lambda 2$ 1204nm		$\lambda 2$ 1228nm	
PLS 3factors	0.9959	2.29	0.9605	7.20	0.9627	6.01
PLS 4factors	0.9974	1.84	0.9862	4.32	0.9883	3.40

Fig. 3 CP/MAS ¹³C-NMR spectra of polymorphic forms of terfenadine

ンには I 形と II 形の結晶多形が存在する。スペクトルの各シグナルの帰属は溶液の NMR をもとに行ったが、それぞれの炭素のシグナルはとても類似していることが分かった。しかしながら、tert-ブチル基の部分のケミカルシフトが少し異なり、I 形は 33.5ppm、II 形は 32.0ppm 付近にそれぞれシグナルが認められた。標準的に用いられる処方では、添加剤に乳糖とデンプンが用いられるため、ここでも添加剤に乳糖とデンプンの混合物を用いてスペクトルを測定した。乳糖、デンプン系では 60~110ppm の範囲にシグナルが認められず、テルフェナジンの tert-ブチル基のシグナルとは重ならなかった。そこで、まず錠剤の質量を 200mg に固定（添加剤は、乳糖：デンプン = 7 : 3）し、結晶多形 I 形のテルフェナジンが 5 %、10 %、20 % 含有するように調製し、固体 NMR 測定を行なった。この際、試料管に錠剤が入らないので、錠剤を少し砕いて試料管に詰めて行なった。tert-ブチル基のシグナル強度は、含量とともに定量的に増大していた。そこで、テルフェナジン（10wt %）と添加剤

Fig. 4 CP/MAS ¹³C-NMR spectra of mixture of polymorphic forms of terfenadine tablets (containing 10 % of active ingredient)

(90wt % : 乳糖：デンプン = 7 : 3) を含む 200mg の錠剤を調製し、その際、テルフェナジンの結晶多形の比率を変化させて錠剤を調製し、固体 NMR 測定を行なった。得られた固体 NMR のスペクトルを **Fig. 4** に示す。結晶多形 I 形、II 形の tert-ブチル基に帰属されるシグナルの重なりから成るピークを Gauss 型ピークに当てはめてピーク分離を行い、予め秤量して混ぜ合わせた混合比と実測したピーク面積比をプロットすると、**Fig. 5** に示すように良い相関関係が得られた。このことから、固体 NMR により製剤中に存在す

Fig. 5 Relationship between mixing ratio and relative peak area of form I of terfenadine by CP/MAS ¹³C-NMR

Table 3 Correlation coefficient and standard error of calibration (SEC) and prediction (SEP) analyzed by MLR and PLS

	Containing 10 % of terfenadine			Containing 30 % of terfenadine		
	R ²	SEC	SEP	R ²	SEC	SEP
1420/2148	0.973	5.44	5.10	0.988	3.72	3.13
2072/2148	0.963	5.46	6.23	0.948	2.41	2.48
PLS (5factors)	0.997	1.81	1.82	0.999	1.29	1.85

Fig. 6 Powder X-ray diffraction profiles of granules obtained by spray drying

Fig. 7 CP/MAS ¹³C-NMR spectra of terfenadine granules prepared by spray drying

る mg レベルの結晶多形の混在を確認できるものと推定された。

3. 4 噴霧造粒物中におけるテルフェナジンの結晶化度の評価

製造工程中で原薬の結晶化度に影響を与える可能性の最も高い工程として、造粒工程が考えられる。そこで、造粒工程における顆粒中の主薬の結晶化度を評価することを目的に、モデル化合物にテルフェナジンを用いて行った。テルフェナジンは、粉碎などで容易に非晶質化することが以前より確認されているため使用した。NIR による結晶化度定量の妥当性を検討するため、主薬含量 10wt % と 30wt % の 2 水準で検量線を作成した。検量線は、テルフェナジンの I 形結晶、II 形結晶、非晶質の全量が 10wt %, 30wt % となるようにし、その混合比を 6 水準で変化させ、残りの添加剤にはカルボキシメチルエチルセルロース (CMC) を用いて調製した。各々の混合比の試料を 10 本ずつ作製し、各 5 回ずつ測定した。測定波長は、相関性の良い O-H 基の倍音である 1420nm、O-H 基の伸縮振動と変角振動の結合音である 2072nm で求め、結晶化度以外の影響を除くため、結晶化度の違いで吸収の影響を受けない 2148nm で除して求めた。PLS 法による結果も含めて、テルフェナジンの結晶化度の評価に対する相関性を **Table 3** に示す。テルフェナジン含量が 10wt % の場合は、30 % に比べて標準誤差が大きくなった。これは添加剤である CMC による吸収の影響を受けたものと推定された。そこ

で、テルフェナジンを 30 % 含む顆粒を噴霧造粒法の条件を変えて調製し、顆粒中のテルフェナジンの結晶化度を評価した。**Fig. 6** に示すように、得られた 5 種類の試料は、粉末 X 線回折測定により結晶化度の異なる試料であることを確認した。

製剤中の主薬の結晶化度を粉末 X 線回折測定で定量することは、添加剤の影響を受けるために困難である。そこで、固体 NMR 法によりテルフェナジンの結晶化度を求めた。**Fig. 7** に、テルフェナジンの固体 NMR 測定結果を示す。混合物で測定した時と同様に 30~36ppm の領域において、I 形、II 形、非晶質のテルフェナジン分子の末端に位置するメチル基に帰属されるシグナルに顕著な違いが認められた。また、CMC にはこの領域にシグナルが認められないことから、造粒物中のテルフェナジンの結晶多形、非晶質のメチル基のシグナルをカーブフィッティング法により分離して結晶化度を求めた。NIR 及び固体 NMR による結晶化度の定量結果を **Table 4** に示す。NIR で比較相関性の良かった MLR 法 (2072nm/2148nm) 及び PLS 法で評価した。その結果、MLR 法では蒸留水で調製した造粒物は NIR と NMR で結晶化度の値に相関性が認められたが、ジクロロメタンから調製した造粒物では NIR と NMR で相関性が低かった。これは、ジクロロメタンによる噴霧ではテルフェナジンが溶解し、CMC 中に分子レベルに分散するため、NIR で検量線を作成した時の非晶質のスペクトルとは異なり、誤った評価になったものと推定され

Table 4 Comparison of crystallinity of granules obtained by NIR and CP/MAS ¹³C-NMR

	NIR		Solid state NMR		
	2072/2148	PLS (R = 5)	Crystallinity	Form I	Form II
	Crystallinity	Crystallinity			
W-1	81.2	88.0	80.0	79.6	0
W-2	77.4	85.3	83.5	65.6	17.8
W-3	65.7	70.6	64.6	31.3	33.3
D-1	27.1	24.1	20.1	9.5	10.6
D-2	26.4	13.0	15.5	1.7	13.8

た。一方、PLS法では、NIRとNMRにおいて良い相関が得られた。このように、調製中に医薬品と添加剤との間で分子間相互作用を生じるような場合には、相互作用によりスペクトルのパターンが変化するため、物理的混合物から求めたMLR法による検量線からは、精度よく結晶性を評価することは難しかった。しかしながら、PLS法を用いて評価することで精度は向上した。

4. 結 論

NIR法により添加剤との物理的混合物、あるいは、

圧縮成形した錠剤中の主薬の結晶化度を精度よく定量することができた。また、顆粒中の主薬の結晶化度についても、単純に混合分散された状態のものについてはNIR法で求めた検量線から精度良く定量することができた。一方、造粒中に主薬が添加剤と分子間相互作用するものについては、NIRによるMLR法では精度良く定量することが困難であった。また、PLS法では評価が可能であったが、精度良く評価するためには、固体NMRやその他の分析手法との併用で評価する必要がある。

References

- 1) <http://www.fda.gov/cder/guidance/6419fnl.pdf>
- 2) Tanino, T.: "Application of PAT for manufacturing Technology", *Pharm. Tech. Japan.*, **19**, 2241-2254 (2003)
- 3) Matoba, B.: "Guidance for industry PAT-a framework for innovative pharmaceutical manufacturing and quality assurance-", *Pharm. Tech. Japan.*, **19**, 2255-2266 (2003)
- 4) Balboni, M. L.: "Process Analytical Technology concepts and principles", *Pharmaceutical Technology*, 54-66 (2003)
- 5) Stephenson, G. A., R. A. Forbes and S. M. Reutzel-Edens: "Characterization of the solid state: quantitative issues", *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **48**, 67-90 (2001)
- 6) Fountain, W., K. Dumstorf, A. E. Lowell, R. A. Lodder and R. J. Mumper: "Near-infrared spectroscopy for the determination of testosterone in thin-film composites", *J. Pharm. Biomed. Analysis*, **33**, 181-189 (2003)
- 7) Lopes, J. A., P. F. Costa, T. P. Alves and J. C. Menezes: "Chemometrics in bioprocess engineering: process analytical technology (PAT) applications", *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, **74**, 269-275 (2004)
- 8) Hailey, P. A., P. Doherty, P. Tapsell, T. Oliver and P. K. Aldridge: "Automated system for the online monitoring of powder blending processes using near-infrared spectroscopy. Part I. System development and control", *J. Pharm. Biomed. Analysis*, **14**, 551-559 (1996)
- 9) Norris, T., P. K. Aldridge and S. S. Sekulic: "Determination of endpoints for polymorph conversions of crystalline organic compounds using online near-infrared spectroscopy", *Analyst*, **122**, 549-552 (1997)
- 10) Fevotte, G., J. Calas, F. Puel and C. Hoff: "Application of NIR spectroscopy to monitoring and analyzing to solid state during industrial crystallization process", *Int. J. Pharm.*, **273**, 159-169 (2004)
- 11) Salem, M. S., G. K. Pillai, L. Nabulsi, H. N. Al-Kaysi, T. A. Arafat, A. A. Moloooh, M. Saleh and A. A. Badwin: "Preparation, characterisation and transformation of terfenadine polymorphic forms", *Int. J. Pharm.*, **141**, 257-259 (1996)
- 12) Ogaki, Y. and K. Satoshi: "Kinsekigai bunkouhou", pp. 173-178, Japan Scientific Societies Press, Tokyo (1996)