

## 製薬分野におけるラマン分光分析

Gwenaëlle Le Bourdon, Fran Adar

## 要旨

ジョバンイボン社(JY)におけるラマン分光装置のビジネスは、最近5年間で急速に成長を遂げた。ラマン発展の最大の要因は、製薬業界への浸透である。ラマンスペクトルは容易に測定でき、またX線回折法(XRD)や赤外線分光法(FTIR)などを補完する重要な情報が得られる。1 μm近傍でのスペクトル分解能は他の手法に比べ抜きんでている。しかも、サンプルをガラスやプラスチックケースに入れたままで測定できる。最も注目すべき特長は、いろいろな固体状態を区別でき、医薬活性成分の分散状態を測定できる点である。本稿ではこれらの特長と、薬剤の具体的測定例を紹介する。

## 1 はじめに

ここ10年間のラマン分光法の著しい発展と共にラマン市場は加速度的な成長を遂げた。その結果、特定の用途に特化したシステムの開発要求が次々と寄せられ、それらのために開発した装置は、後にいくつもの標準ラインナップ製品になった。

ラマン分光装置の最も大きな成長が期待されている市場は製薬分野であるが、それは次のような事情に基づいている。

- ・ラマンスペクトルの測定は「容易」とであると認識されるようになってきた。
- ・ラマンスペクトルにはフーリエ変換赤外分光(FTIR)やX線回折(XRD)などを補完する多くの情報を含んでいる。
- ・ラマン計測から得られる情報には、製薬産業にとって興味あるものがいくつもある。

例えば、活性成分に対する補形薬の識別、活性成分の多形(ポリモルフィ)の識別、化学反応の中間生成物のモニタリング、溶液の組成の測定などである。

製薬産業にとって特に興味があるのは、多形<sup>\*1</sup>で、それには2つの理由がある。活性成分の多形体は、可溶性や生体適合性などに明らかに影響を与える。しかしそれ以上に、その特性のため、製薬会社が化学構造と同様に、多形についても特定した特許権を取ってきたためである。

ここで重要なことは、小さな分子の多形が化学的相互作用によって決定されることである。つまり、特定官能基間の分子間及び分子内部の相互作用が、結晶内の分子相互の固定状態と同様に分子の形態を決定していることである。XRDも多形の違いを同定することはできるが、詳細な情報を得るためには完全なパターンのフィッティングが必要になる。一方、ラマン及び赤外線スペクトルでは、分子の官能基の多くは同定可能な振動モードを持っており、これらの振動モードが化学的結合によってシフトするため多形体を識別できる。

本稿では、これらのタイプの測定例を紹介して、ラマン分光装置の効用を示す。

\*1 ここで使う多形は、結晶に水や水が含まれることで生じる擬似多形の現象と、正負の官能基がアニオンやカチオンと結びついてできる塩形を含む。

2 補形薬に対する活性成分  
その同定とマッピング

医薬品は通常、純粋な物質としてはほとんど販売されていない。医薬活性成分は、バルク状にし有効保存期間を延長したり、固体化学反応を制御したり(ポリマーで医薬活性成分を包装して)放出時間を制御したりするために補形薬と混合される。

固形混合物の重要な課題は薬の成分の配合である。実際問題、混合操作自体が重要になる。大きさは等しいが密度の異なる数種類の乾燥微粉末を振動させると、成分ごとに完全に分離してしまうことが報告

されている<sup>[1]</sup>。そこで、優れた生産技術や品質管理によって錠剤の成分を保証することが必要となる。

ラマン分光は、補形薬から医薬活性成分を識別するのに理想的なツールとなっている。事実、それは特別に調合されており、通常、医薬活性成分は微量成分である。しかしそれらのほとんどはラマン活性の高い芳香族基を少なくとも1つ持っているため、そのラマン信号は他の成分と比較して非常に高くなる。

最初に薬用錠剤の測定例を紹介する。図1は、ある錠剤の光学顕微鏡像である。この写真からは錠剤中の粒子の形を「見る」ことはできるが、化学的な情報を何ら得ることはできない。一方、「分光学的に見る」と、少なくとも3種類の組成を持った粒子が存在している。それは写真の青い色の枠で囲んだ領域を「マッピング」することからわかる。

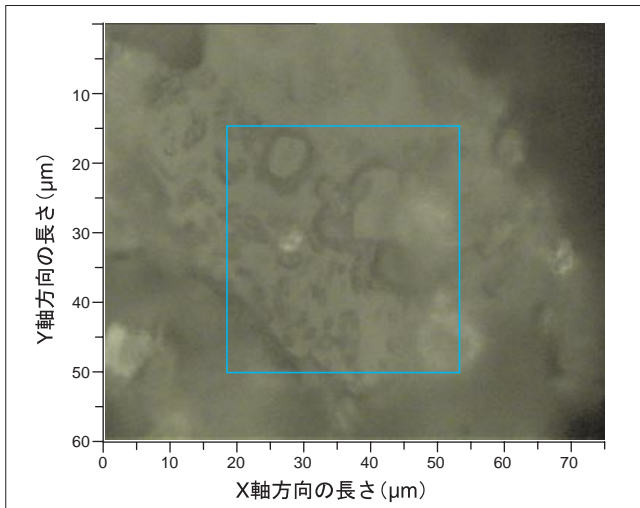


図1 ある錠剤の光学顕微鏡像

サンプルをX軸及びY軸方向にレーザービームで走査し、それぞれのポイントごとにラマンスペクトルを測定し、それぞれの化学組成でマッピングする。画像の色は、印刷されたスペクトルと同じ色で表示される(図2)。ラマンスペクトルを内蔵のライブラリで検証し、2種類の補形薬が乳糖(ラクトース)(図2a)と小麦の澱粉(スターチ)(図2b)であることが同定された。第3番目の成分Cは確定されなかったが、約1000 cm<sup>-1</sup>にピークが存在することから、一種の芳香族であろうと推定された(図2c)。Cのラマン強度が他より1桁大きいことより、芳香族基を持つ医薬活性成分が通常強いラマンスペクトルを示すことが期待されていることに注意されたい。なお、補形薬の同定には“SpecID”というライブラリ検索ソフトを使用した。

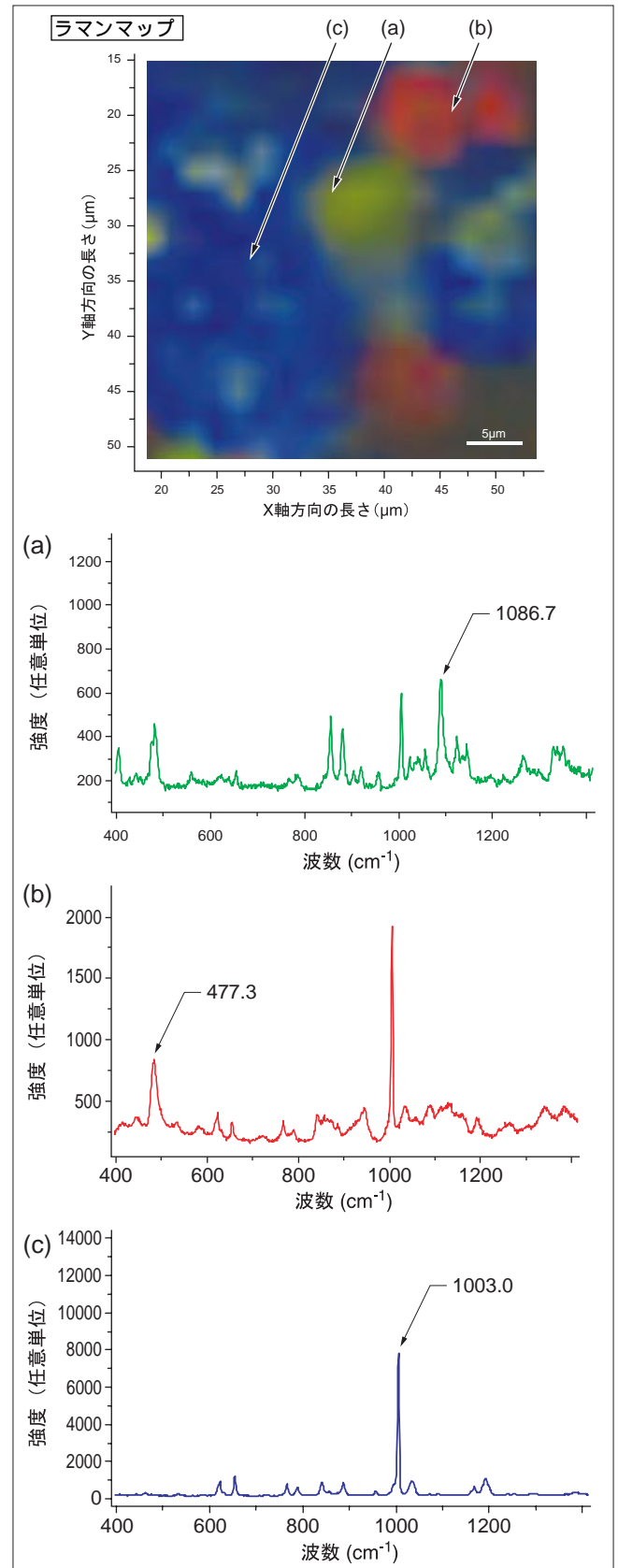


図2 ある錠剤のラマンマッピング

- (a) 乳糖(ラクトース)のラマンスペクトル
- (b) 小麦の澱粉(スターチ)+成分Cのラマンスペクトル
- (c) 成分C(芳香族と推定)のラマンスペクトル

図3は、前の2個の補形薬である乳糖と小麦の澱粉のラマンスペクトルを、図4は、両スペクトルを重ねて同定している時のパソコン表示画面を示す。

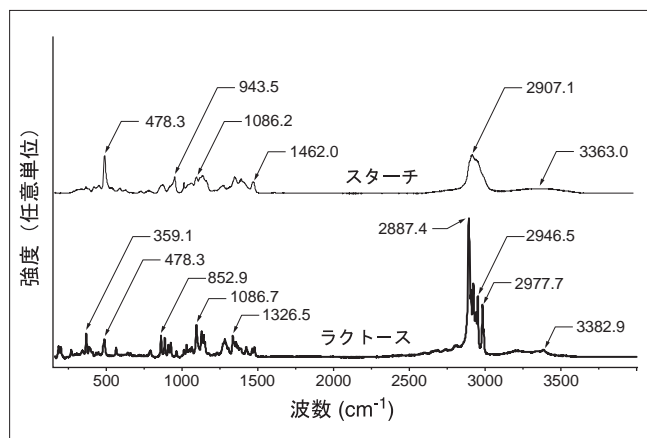


図3 乳糖(ラクトース)と小麦の澱粉(スターチ)のラマンスペクトル

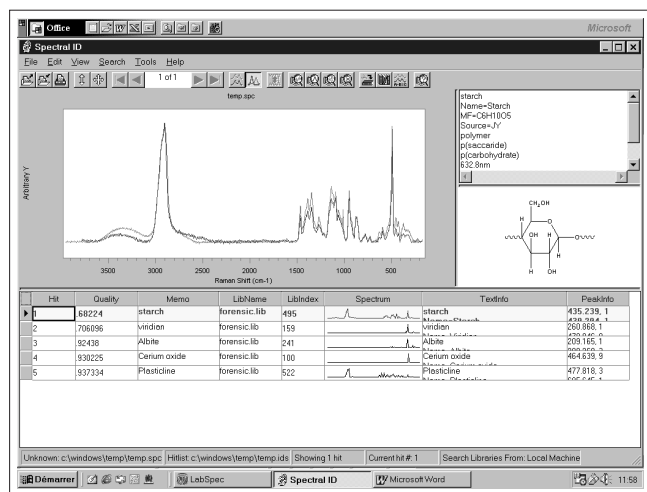


図4 スペクトルの同定画面

### 3 多形(ポリモルフィ)

多形の制御は製薬業界では重要な課題となっている。薬剤の可溶性と生体適合性は多形に依存しているため、製薬会社では多形を制御して特徴的な仕様の製品の特許化を望んでいる。多形はXRDを用いても決定できる。しかし、XRDはある程度の量のサンプルを必要とし、化学的な情報は直接的に得ることができない。これに対し、分子振動分光学的な手法は、官能基の間の化学的相互作用を表現することができる。更に、振動スペクトルの空間的分解能は、XRDに比較して非常に高く、レーザ光の回折限界ぎりぎりの微結晶の測定が可能である。例えばラマン分光の空間分解能は約1 μmであり、FTIRの空間分解能は約20 μmである。

製薬業界では、多形の同定が重要なだけでなく、製品の製造過程における管理もまた重要である。あ

る条件下では、特定の多形体から別の多形体に非常に簡単に転換する。例えば、相対湿度が制御できなければ結晶の含水量が変化し、そのために擬似多形の相が変化する。補形薬と医薬活性成分との混合や錠剤を圧縮する場合にはそれらの製造条件の制御が重要で、条件が変わると含水量や形状が変化する。

図5a~cはラマン分光がタイレノール(解熱鎮痛薬)の多形を同定する能力を持っていることを実証するスペクトルである。A型とB型の2種類が存在していることがわかる。

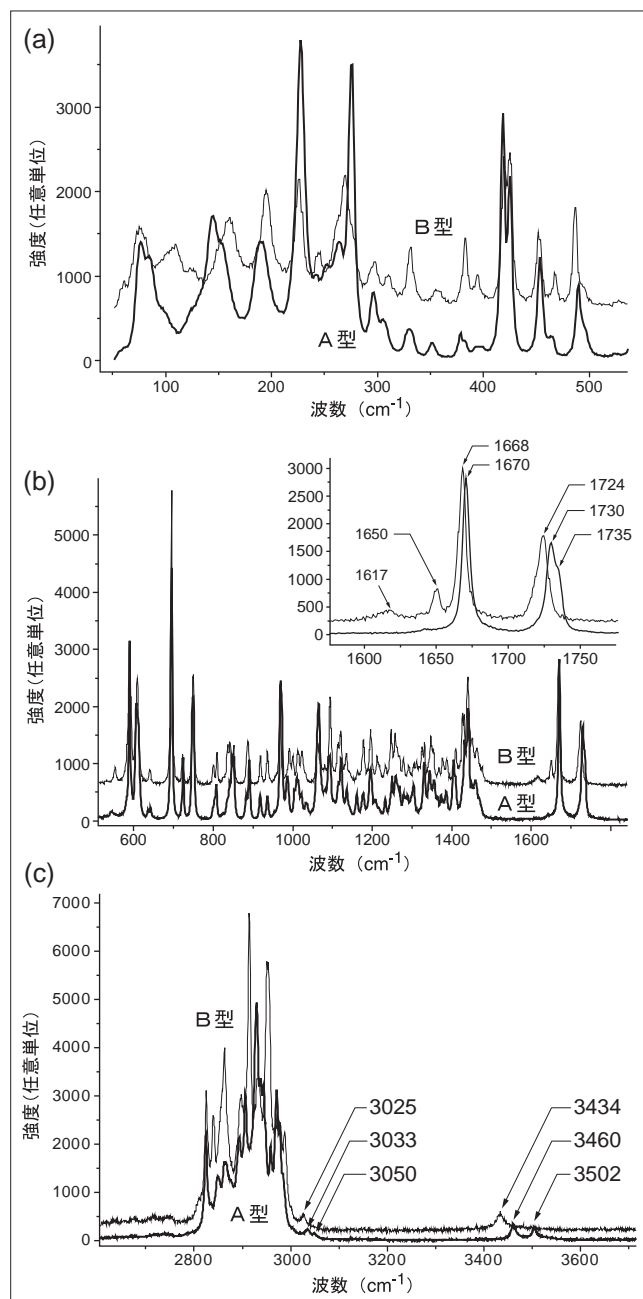


図5 タイレノール多形のラマンスペクトル  
(a)波数 約50 ~ 500cm<sup>-1</sup>  
(b)波数 約500 ~ 1800cm<sup>-1</sup>  
(c)波数 約2600 ~ 3700cm<sup>-1</sup>

同じサンプルのLabRam IRで測定した赤外線吸収スペクトルを図6a, bに示す。

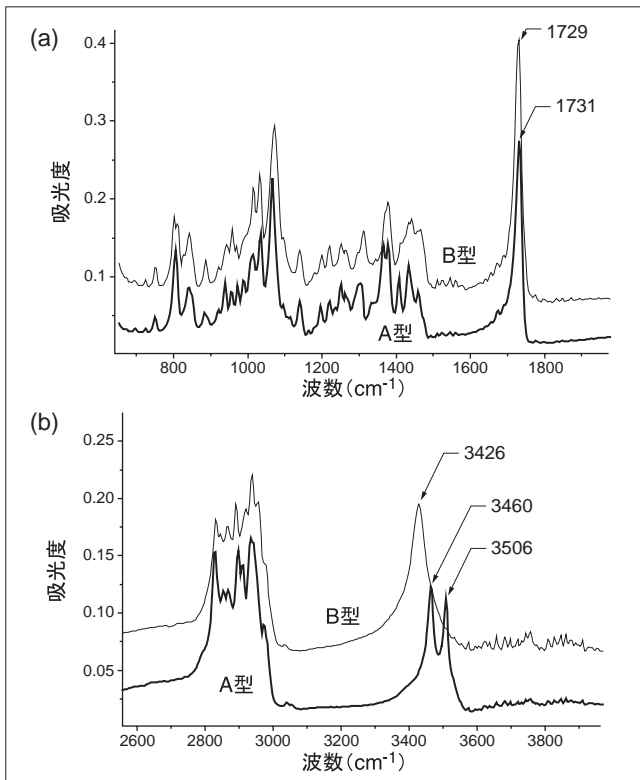


図6 タイレノール多形の赤外吸収スペクトル  
(a)指紋領域 (b)CH/NH領域

1章で述べたように、官能基間の相互作用が分子の結晶化過程を決定することを思い起こしていただきたい。ここでは振動スペクトルから分子の集合状態に関する情報がどのように得られるかがわかる。

表1は、結晶化したタイレノールのラマン及び赤外スペクトルの $>NH/OH$  ( $3300-3600\text{ cm}^{-1}$ )及び $>C=O$  ( $1710-1740\text{ cm}^{-1}$ )ピーク波数を示す。

FTIRとラマンの測定結果はほぼ一致している。A型はNH/OHにダブルピークがあるが、B型はシングルピークである。カルボニル帯はB型よりA型でやや高い波数を持つが、波数の違いはFTIRスペクトルよりラマンスペクトルの方がはっきりしている。

表1 タイレノール多形のラマン及びFTIRのピーク波数

	A型	B型
ラマン	3460/3502 $\text{cm}^{-1}$ 1730 (sh 1735) $\text{cm}^{-1}$	3434 $\text{cm}^{-1}$ 1724 $\text{cm}^{-1}$
FTIR	3460/3506 $\text{cm}^{-1}$ 1731 $\text{cm}^{-1}$	3426 $\text{cm}^{-1}$ 1729 $\text{cm}^{-1}$

一般的に、カルボニルに対してはIRの方がラマンより高感度であることが知られており、事実この帯域でのラマン強度は比較的低い。しかし、波数の違いを区別する点ではむしろラマンを用いる方が有利であることがわかる。この原因は、IRの波数帯域がラマンより広いためであると考えられる。

波数の差は、水素結合のような現象によって生じる。波数が低いということは多くの水素結合が存在していることを意味しており、また帯域が広がる原因の多くは水素結合によるものである。本サンプルでは、B型がより強い水素結合を示している。

## 4 高速スクリーニングとマルチウェルLabRam

LabRamのソフトウェアは、マルチウェル・プレートによる自動分析にも対応してきた。以上述べてきた現象のすべては、高速スクリーニングのための自動分析となじみやすい。ユーザが定義した分析プログラムの手順を用いて、表計算ソフトであるExcel形式で出力することができる。例えば、医薬活性成分対補形薬の濃度、あるいは多形相をウェルの位置と対応させて表形式で報告することができる。

## 5 おわりに

過去75年の不断の努力により、分析・試験室における高性能で自動化したラマン計測システムを実現する道が開けた。これらの開発は実際には2方面に分かれた。一つはスペクトルデータの高度な解釈により有用な情報を引き出すことであり、もう一つはできる限り小さな労力でデータを得ることである。これら2つの流れを合わせた我々の成果を活用し、製薬業界すべての工程の生産性向上に寄与できることを願っている。

### 参考文献

- [1] Tom Mullin, "Mixing and De-mixing", Science 295, p.1851 (8 March, 2002)



Gwenaelle Le Bourdon, PhD

Jobin Yvon S.A.S  
Raman Division  
Application Scientist



Fran Adar, PhD

Jobin Yvon Inc.  
Raman Worldwide  
Senior Application Scientist