

昭 和 薬 科 大 学
博 士 学 位 論 文

近赤外分光法による
固形製剤分析評価に関する研究

平成 27 年度
笹 倉 大 督

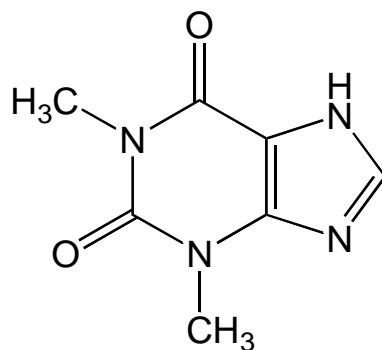
目次

緒論	6
第 I 章 透過型近赤外分光法を用いた含量均一性試験に適用する多変量解析 定量モデルの効率的な開発に関する検討	15
第 I 章 第 1 節 序論	15
第 I 章 第 2 節 実験材料および実験装置	
I)-2-1 製錠に関わる情報	20
I)-2-2 錠剤中有効成分の定量分析	20
I)-2-3 錠剤の透過型近赤外スペクトルの取得	20
I)-2-4 定量モデルに使用する波数領域決定のための近赤外分光測定	21
I)-2-5 定量モデルに使用する処方候補の設計と PLSR モデルの作成	22
第 I 章 第 3 節 結果および考察	
I)-3-1 定量モデル用試料の処方設計	22
I)-3-2 近赤外領域での目的成分のスペクトル解析	28
I)-3-3 設計候補に基づいた PLSR 定量モデルの開発	29
I)-3-4 PLSR モデルの特異性に関する検討	31

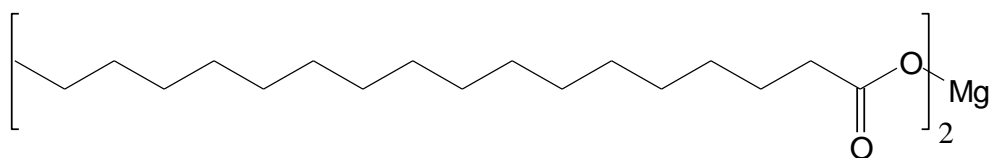
I)-3-5 外部検定試料による PLSR モデルの予測性能の比較検証	34
第 I 章 第 4 節 小括	35
第 II 章 リアルタイム近赤外分光法を用いた打錠機の原料供給フィーダー 管におけるステアリン酸マグネシウムの定量的検出	
第 II 章 第 1 節 序論	37
第 II 章 第 2 節 実験材料および実験装置	
II)-2-1 成分処方および製錠条件	40
II)-2-2 リアルタイム近赤外スペクトルの取得	40
II)-2-3 StMg 定量用の部分最小二乗相関法(PLSR)モデルの作成	41
第 II 章 第 3 節 結果および考察	
II)-3-1 StMg 定量用 PLSR モデルの開発	41
II)-3-2 打錠機のフィーダーにおけるリアルタイム NIR 分析による StMg 含量のリアルタイムモニタリング	45
II)-3-3 リアルタイム NIR 分析による StMg の濃度変化検出試験	47
第 II 章 第 4 節 小括	49

総括	51
謝辞	55
本論文内容の誌上発表	56
参考文献	57

化学構造及び略号



テオフィリン theophylline (TEO)
CAS 58-55-9
Molecular Weight 180.16



ステアリン酸マグネシウム magnesium stearate (StMg)
CAS 557-04-0
Formula Weight 591.3

本論文においては、いくつかの項目で以下の略号/用語を用いた。

NIR : Near Infrared 近赤外

NIRS: Near Infrared Spectroscopy 近赤外分光法

PLS: Partial Least Square 部分最小二乗法

PLSR: Partial Least Square Regression 部分最小二乗回帰分析法

SNV: Standard Normal Variate 標準正規変数化処理

SLS: Straight Line Subtraction 除直線処理

Normalization: 正規化処理

Offset Collection: オフセット補正処理化

First Derivative: 一次微分

Second Derivative: 二次微分

結 論

薬剤の投与方法として汎用されるのは経口投与であり、その製剤の種類は固形製剤や液状製剤、半固形製剤などがある。そのなかでも、錠剤、顆粒、散剤をはじめとする、粉体を原料とした固形製剤は工業的にも生産が容易なため多用されており、なかでも特に、錠剤の生産量は医薬品全体の総生産量の 50% を超える割合を占めている。錠剤について考えてみると、有効成分（薬効成分）の他に様々な添加剤が用いられる。これは多くの場合、有効成分（薬効成分）のみでは成形加工することが困難であることに起因する。したがって、錠剤とは何らかの方法で有効成分とそれ以外の複数の成分を混合したのち成形されるものである。

種々ある錠剤品質の管理項目のうち、有効成分含有量および溶出性と崩壊性は重要視される場合が多い。まず有効成分量に着目すると、錠剤の服用量は個数で決められるため、1 個の錠剤に含まれる有効成分量が一定である必要がある。もし、有効成分量がばらつけば、含有量が多い場合は過剰投与となることで副作用が生じ、あるいは逆に含有量が少ない場合は薬効が出ないなどといった臨床的な問題を引き起こすため、含有量の適切な管理と制御は重要である。また、錠剤中に適量の有効成分が適切に含まれていても、錠剤が体内において必要な部位で適切に崩壊し、有効成分が制御された速度で溶解することで、適切な吸収がなされなければ、薬効に影響が出る。このため、錠剤の崩壊性と溶出性は、薬効の制御という観点からも非常に重要な因子になりうる。上記した制御されるべき種々の特性を持つ錠剤を工業的に作成する工程を、製錠工程あるいは打錠工程（以下、製錠工程）と呼ぶ。これは粉

砕や篩過、造粒、分級などの粉体製造に関わる各種単位操作を経て、圧縮成形（打錠）し、必要に応じてコーティングなどを施したのち、包装などの工程を経て最終製品を製造する工程であるが、その工程制御は高度な技術力が要求される。その主な理由は、錠剤の構成成分である粉体が複雑系であり、このことが単位操作の一つ一つを技術的な制御を困難なものにし、さらに、この複雑化する粉体の単位操作が組み合わせられて初めて製錠工程が成立することにある。しかし、現実での生産工程では最適な構築や品質制御において多くの部分をいまだに製造技術者の経験や勘に頼るところが多い。

この課題を含め、近年の医薬品の各種製造工程については、**International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use**（日米 EU 医薬品規制調和国際会議，以下 ICH）の Q8、Q9、Q10 で科学的理解とリスク解析に基づいた製品開発や生産工程の構築および制御に関する事項などが議論されている。なかでも注目を集めている新しいフレームワークとして **Quality by Design (QbD)** がある。このフレームワークは 1992 年に米国の経営コンサルタント **Juran MJ** によって提唱された概念である（**Juran MJ 1992**）。提唱当初は、主には化学、自動車産業から注目を集めていた。製薬分野では、それに少し遅れて 2002 年に **FDA** の **Woodcock** らが、“**Pharmaceutical Quality for the 21st Century: A Risk-Based Approach**” (2002) において提唱したことで認知が急速に進んだ。特に ICH Q8 においては「目標設定に始まり、製品及び工程の理解並びに工程管理を重点においた、立証された科学および品質リスクマネジメントに基づく体系的な開発手法」と定義されている。一般的な QbD による工程構築法では実験計画法 (**Design of Experiments: DOE**) などに基づいた工程の振れ幅（工程挙動）

をあらかじめ想定し、入力因子として各種工程に変動を恣意的に与える試験を実施する。そののち、生産物（中間体・製品）を応答因子として分析することで工程内での製品の製造挙動を予測し、その予測に基づいて各種の工程を構築する手法を用いる。その利点は、生産工程挙動を事前に考察することで、品質（＝製品や製造工程）をデザイン（＝計画すること）し、最終製品の品質があらかじめ予測された範囲内にあることを科学的に保証することが可能となる点にある。この QbD は ICH Q10 においても批准され、医薬品の各種製造生産工程において注目されている重要なフレームワークとなりつつあり、規制当局によって要求に近い推奨がなされている。

しかしながら、この QbD アプローチの難点は、あくまでも生産挙動を「予測」するアプローチであり、DOE などで精密に決定されたデザインスペース（計画された品質の空間）を用いたとしても、そのみでは「完全な工程制御」は原理的に困難なことにある。この理由は、生産工程を「原料を投入し、適宜設置された製造機械または人も介在することで、製造エラーを含みつつ、一定時間で物質（原料）が移動して製品になる過程」と考えた場合、得られる最終製品は、一定の時定数とエラーを含んだ工程振れ幅の積算結果となることである。したがって、工程内での各時系列での詳細な中間体や製品に関する挙動、情報は最終製品を詳細に分析しても情報を得ることは困難となる。このため、Fig.1 (a)に示すように、工程中の挙動は「ブラックボックス化」するため、完全に理解できなくなる。この難点を解決するためには、実生産の工程挙動を合理的に把握することが必要である。そのためには、生産工程によって得られた最終製品を分析することで過去の工程挙動を予測するのではなく、Fig.1 (b)に示すように、できるだけ工程挙動をリアルタイムに監視

できるようにする手法を用いることが必要となる。この手法により、従来はブラックボックス化していた工程挙動を科学的に理解するという目的に合理的に合致することになる。この目的を達成し、かつ、QbDを補完するフレームワークとして同様にICHで推奨されているのが、プロセス解析工学(Process Analytical Technology: PAT)である。詳細は第II章でのべるが、このPATを実現するツールとして、近年注目を集めているのが近赤外分光法(Near Infrared Spectroscopy: NIRS)である。

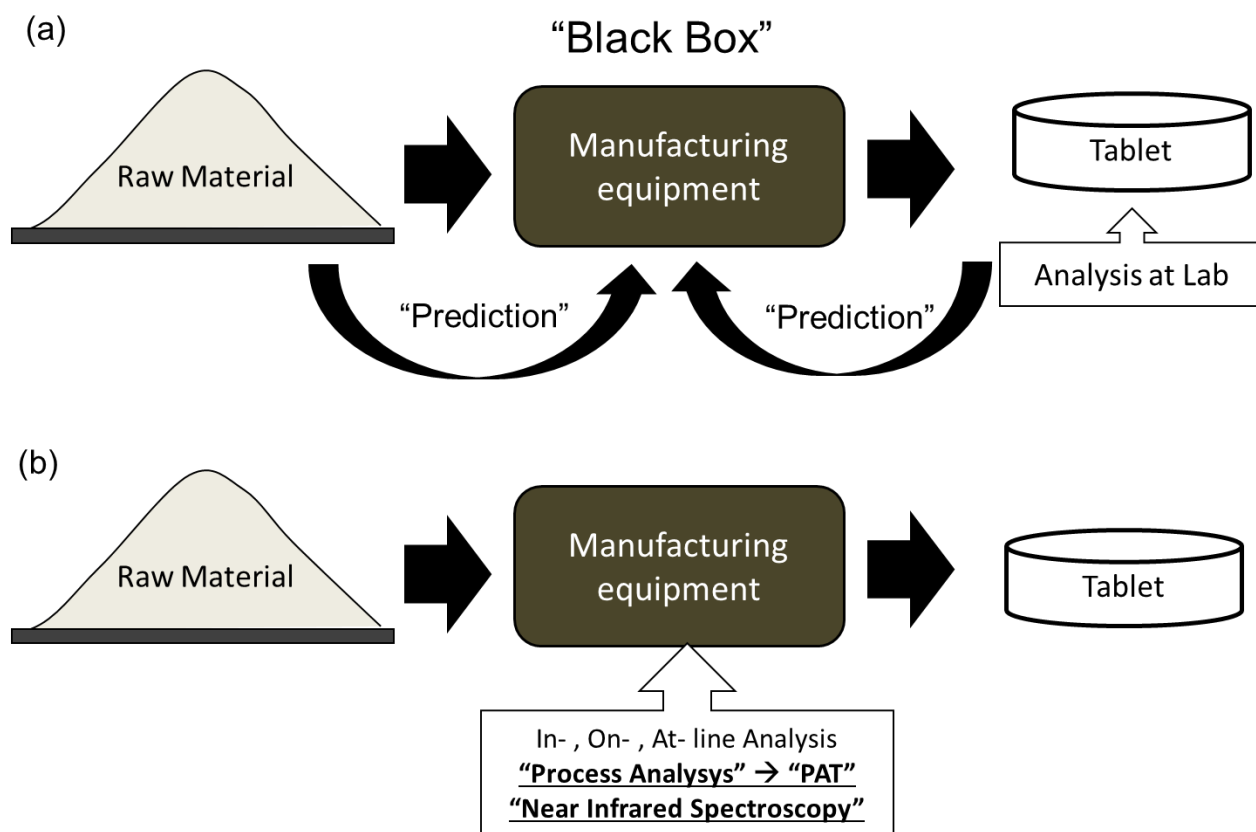


Fig. 1 Concept illustration showing (a) an existing approach and (b) a process analysis.

NIRSとは、近赤外光領域 (Near Infrared (NIR) Region) といわれる電磁波領域を利用して、主には分光分析を行う手法を指す。近赤外光領域とは、日本工業規格(JIS) K0134において、近赤外線は波長 700~2500 nm (波数 14286 ~ 4000 cm^{-1})の領域を指すことと定義されている。同じく JIS K 0117に記載されている中赤外領域である波数 4000~400 cm^{-1} (波長 2.5~25 μm) より、可視光に近い領域である。この発見の歴史は古く、Abney らによって 1891年に NIR 光領域の吸収スペクトルが報告されている (Abney W and Festing E R 1891)。主には、測定対象物質の振動の倍音や結合音が観測されるので、本質的には、分子の振動を取り扱うという点において、赤外分光法と密接な関係を持つ分光法である。NIRS と赤外分光法との最大の違いは、基準振動ではない非調和性を持つことや禁制遷移を観測することにある。詳細は第 I 章、II 章にてそれぞれ説明するが、錠剤を非破壊で迅速に測定可能である点や光ファイバースプローブ化が可能などの利点をもつ。このことを考慮にいれ、NIRS の化学分析技術としての特徴を整理すると以下のようなになる。

- 1) 迅速測定 (数秒~数分以内) や遠隔あるいはその場分析が可能であり、また、非破壊、非希釈で測定が可能である。
- 2) 基本的には、吸収分光法であるため、赤外分光法と同様にランベルト・ベールの法則に従うことから、成分濃度の定量分析にも適用できる。
- 3) NIRS は、基準振動ではない非調和性を持つことと禁制遷移を観測することで、ピークがオーバーラップしたり、幅広くなる (ブロードニング) ことや、吸収強度が低いことなどの物理学的な問題点を持つ。したがって、高精度な定性分析や、低含量測定には向かない。

このように、NIRS を化学分析に用いるためには、上記の理論的な背景と特徴をよく理解する必要がある。NIRS を定量分析に適用する場合の難点は、スペクトルデータのピークのオーバーラップやブロードニングという物理学的な問題点の他に、一般化学分析で用いられるように目的成分のみを選択的に抽出するような試料の破壊を伴う前処理操作を行わない、非破壊分析法である点にある。したがって、特に錠剤の分析を考えた場合、問題になりうるのは、添加剤を伴う複合成分であることが多いため、計測データには目的成分だけではなく、その他の成分のデータが本質的に含まれることである。このような性質を持つ NIRS データから、目的に合致した情報を適切に抽出するために用いられる解析技術が、多変量解析技術を利用したケモメトリックス (chemometrics=chemistry+metrics の造語) である (Kowalski BR 1980; Wold S *et al.* 1998)。これは、70 年代中期、化学分析の新しいパラダイムとして誕生した技術で、「数学的手法や統計的手法を適用し、最適手順や最適実験計画の立案・選択を行うと共に、化学データから得られる情報量を最大化する」ことを大きな目的とする(相島 1991; Kettaneh N *et al.* 2006)。ケモメトリックスを混合物の固体の分析に用いる NIR に適用する場合の問題点としては、まず、統計解析を用いるため、データの特異性の担保が必ずしも単純でないということ、また、試料を非破壊で測定することから、物理情報もデータとして含まれた分析系であることや、HPLC や ICP 分析のように分離分析等をとまなう絶対定量法ではなく、絶対定量法を従来法として参照値として用いた代替分析法であることがあげられる。したがって、これまで述べてきたように、NIRS を混合物中の目的成分の定量分析に用いるには、NIRS の分光学的な原理に起因する問題点と、混合物を非破壊測定するという現実的な問題点

をよく理解し、ケモメトリックスなどの統計解析技術を用いながら、目的に応じた分析手法を構築する必要がある。

これまで述べてきたことに基づき、固形製剤製造工程を科学的に理解し、品質を適切にマネジメントすることに収束させる分析法としての要件を、以下のようにまとめる。

要件①

固体、かつ、混合粉体で構成されている固形製剤を分析評価可能な分析法であること。

要件②

一定の時定数で変化する工程を、できるだけ頻度高く、可能であればリアルタイムで測定可能であること。

要件③

破壊処理による前処理などを伴うと、前処理に伴う試料の変化やばらつきがあるため、できるだけ非破壊で、迅速測定が可能であること。

この上記の要件に対して、NIRSの適用を考えた場合、以下のような利点と妥当性が考えられる。

1) 粉体を原材料とする固体への適用性が高い

他の分光法と比較して、近赤外光は物質を透過、あるいは内部への浸透をしやすいため、錠剤などの固形試料でも透過して、破壊や前処理を経ることなく内部を調査可能である。

2) 柔軟な測定系構築が可能

光ファイバーによる遠隔操作が可能で、各種のアクセサリーを用いることで、測定する目的に応じて、合理的に装置や分析する手法をリアルタイム化も含めて柔軟に設計することが可能である。

3) 非破壊で迅速な分析系の構築が可能

各種のバルクの製剤試料を非希釈、非破壊、かつ一定の定量性能を持ちつつ、数秒～数分間隔で測定できる迅速分析が可能である。

上記事項が、NIRS が固形製剤の分析評価、特に工程内分析に適用可能であり、注目を集めている理由である。そこで、本研究では、製錠工程における工程分析への NIRS の適用に関する検討を行った。

まず、第一に、工程内での錠剤含量均一性試験への適用を検討した。製錠工程には前に述べたように、工程制御に関する技術的な困難さがある。特に重要な項目として、打錠後の錠剤の有効成分含量の 1 錠毎の濃度ばらつきの監視が考えられるが、現状においては工程内で迅速分析する手法がなく、サンプリングされた試料を製造後に分析する。このため、一定の時系列で製造される錠剤の含量を製造と同時系列で監視することは困難である。この課題を解決するため、透過型近赤外分光法 (TNIRS) を用いた含量分析は有望である。この手法はケモメトリックスによるモデリングを用いて、定量分析法の適切な構築を行うことで、従来分析法と比較して工程内での迅速な錠剤中の含量分析が期待できる手法である。しかしながら、この TNIRS には定量分析法を構築する過程に関する課題があるため、第 I 章では透過型近赤外分光法 (TNIRS) を用いた錠剤の含量均一性試験のために用いる多変量解析定

量モデルの開発の効率化に関する検討を行った。

次に、NIRS を用いた製錠工程におけるリアルタイム監視に関する検討を行った。錠剤では溶解性の評価が行われる。この特性を評価する目的は、有効成分が含まれていても、錠剤が崩壊し、適切に有効成分が吸収されるような溶解性を持つか確認することである。溶解性はバイオアベイラビリティと密接な関係を持つことから、特に重要な評価項目として注目されることが多い。一方、製錠工程では、滑沢工程と呼ばれる工程がある。これは、滑沢剤と呼ばれる粉体を打錠直前にブレンダーまたはミキサーで混合し、打錠後の錠剤が打錠機の圧縮部（臼・杵部）などに付着しないようにするために行われる工程である。錠剤の溶解性異常を起こす因子はいくつか示唆されているが、その一つとして、滑沢工程に用いる成分の一つである疎水性をもち鱗片形状の粉体であるステアリン酸マグネシウム (StMg) の異常挙動が考えられる。この StMg が、工程で異常が起きることで錠剤表面に多く存在する、あるいは、錠剤に大量に含まれた場合、溶けにくく崩壊しづらい、溶ける速度が安定しない、などの問題を引き起こすことが考えられ、溶解性能に与えるリスクが高い。したがって、迅速に製造工程中で監視できることが望ましい。特に、打錠直前のフィーダー管においての粉体ハンドリングに起因する StMg の濃度変化は無視できない因子であるため、II 章にて、NIRS を用いたリアルタイム測定を用いた StMg の濃度変化を監視するシステムの実現性に関する検討を行った。

第 I 章

透過型近赤外分光法を用いた含量均一性試験に適用する多変量解析定量モデルの効率的な開発に関する検討

第 I 章 第 1 節 序論

含量均一性試験は、錠剤の製錠工程において、きわめて重要な試験である。米国薬局方 (United States Pharmacopeia: UP) などの規制当局の規定においては 1 バッチにおいて、通常 100～300 万錠製造される錠剤から、適宜サンプリングした 10～30 錠の試料を代表試料として採用し、含量を測定することで、工程における錠剤の含量均一性を保証するとしている。具体的な含量分析手法としては、クロマトグラフィー法などによる破壊分析で含量を算出し、その標準偏差で含量均一性が保証されている (USP 28-NF19, 2005)。しかし、この手法では 1 バッチの錠剤のうち、0.001%のみを監視していることになる。統計学的には、矛盾のない論理が存在するものの、全体の含量を保証しているとは言いがたく、変動を検出することは困難である。また、クロマトグラフィー法を用いる場合には、以下のような問題点もある。

- 1) 従来的高速液体クロマトグラフィー (HPLC) より測定速度の早い超高速液体クロマトグラフィー (UPLC) の進歩により、クロマトグラフィー法での分析の時間は約半分に圧縮されたが、分析頻度を上げるために、さらに多くのサンプルを測定しようとするれば、機器の増

設や、人的資源の追加投入などのコストが必要である。

- 2) 溶媒などを使用する破壊分析であることから、At Line による工程中で分析監視することが困難である (Blanco M *et al.* 2000)。

NIRS 法 (Near Infrared Spectroscopy: NIRS) は 1 バッチではなく 1 時間に 30 錠以上の錠剤を、試料の前処理を伴うことなく測定可能であることから、医薬品製造工程における新しい工程分析法となりうる可能性があるものとして近年、注目を集めている (Eustaquio *et al.* 1998; Bruce *et al.* 1996; Gottfries *et al.* 1996)。錠剤を NIRS 測定する際に用いられる手法としては、透過測定法 (Transmission NIRS (TNIRS)) と拡散反射測定法がある。なかでも、錠剤分析への NIRS 適用を考えた場合、TNIRS は、感度が高く、再現性の高い測定を容易に非破壊で実現可能であるという特徴をもつ (Meza CP *et al.* 2006; Broad N *et al.* 2001; Petri J *et al.* 2005; Blanco M *et al.* 1999)。

TNIRS が含量均一性試験に優位に適用可能である理論的背景として、NIR 帯域の電磁波が禁制遷移帯を観察することがあげられる。これは、多くの有機物質の吸光度が、NIR 領域において、一般的に小さいということを意味する。たとえば、NIR 領域に観測される水の持つ光の吸収率は、水の分子振動の倍音や結合音による吸収のモル吸光係数よりも 2 桁程度小さな値である。したがって、他の分光法に比較して物質の透過、あるいは内部への浸透が起こり、錠剤や顆粒、粉体などといった固形で、可視的には不透明な物質で中赤外光領域も透過が困難な錠剤や顆粒、粉体でも、一定の領域においては、透過して内部を破壊することや前処理を経ることなく測定可能である。例として、文献から抜粋した CHCl_3 の CH 伸縮振動の基本音、倍音の波数 (波長)

と強度を比較した事例を Table I -1 に示す (尾崎ら, 2004)。

Table I-1 Absorption ratio of the each vibrational state for C-H vibration of CHCl₃.

	Wavelength and Wavenumber		Absorption ratio
	[nm]	[cm ⁻¹]	[cm ² mol ⁻¹]
Combination	3290	3040	25000
Over tone	1693	5907	1620
3 rd over tone	1154	8666	48
4 th over tone	882	11338	1.7
5 th over tone	724	13831	0.15

問題点としては、TNIR 領域は一般的に倍音、3 倍音の領域を観察するため、スペクトルが本質的にオーバーラップすることがあげられる。これは、NIR 領域における振動モデルが、調和振動子モデルではなく、非調和振動子モデルに従い、また、フェルミ共鳴を引き起こすためであると解釈されている。調和振動子モデルとは、化学結合を単純バネ振動モデルで説明する振動子モデルで、どのポテンシャルエネルギーにおいても振幅ないしそれに対応する物理量によることなく定まった周期で振動することを許容する。しかしながら、分子の振動についてのエネルギーが結合距離に必ずしも比例しない場合には振動の振幅が大きくなることがある。この振動の性質を非調和性という。非調和性で記述される振動子を使ったモデルを非調和振動子モデルといい、主には禁制帯で許容され、実際に分子振動の振幅がある準位で大きくなることがある。特に C-H や O-H の官能基のような水素のかかわる分子振動は原子が軽い影響で、振動が速くなり、かつ振幅が幅広くなる。したがって準位が上がることにより、振動の非調和性が高くなり、結果として、NIR スペクト

ルの倍音以上においては、連続的な幅広いバンドとして観測される。一方、フェルミ共鳴とは、例えば、2つの基準振動があった時、結合音や倍音などの振動において、基本振動状態のエネルギーがきわめて近しい場合、本来近しい場所に観察されるべき振動が、相互作用に伴って大きなエネルギー間隔をもった2つの準位に分離するという現象である。一般的には TNIRS 法で得られるスペクトルが、幅広い（ブロードニング）、あるいはオーバーラップして観察される点は上述した理由による。

もう一つの問題点としては、計測データに製造時における物理的情報（圧密度、圧縮時の応力や錠剤を構成する各成分の粒子特性に起因する粒子配列など）が含まれる可能性があることである。この物理的情報は、スペクトルのベースラインの変動に寄与する場合が多い。

したがって、TNIRS で測定されたデータは複雑な因子を含んでいるため、本手法を錠剤の含量均一性試験に用いるためには、工程における物理的因子などの各種情報を含めた多変量解析定量モデル、特に、部分最小二乗法定量モデル(A partial least square regression: PLSR modeling)などの堅牢なモデリングが必要である(Kettaneh N 2005)。したがって、医薬品製造工程において、NIRS の適用と同時に、多変量解析定量モデルの開発法も注目を集めている。典型的な含量均一性試験に用いる TNIRS の多変量解析定量モデル(例えば PLSR)の構築スキームとしては、まず最初に、少量のラボスケール系で、主には単発打錠機などを用いて簡単な定量モデルを作成し、続いて、適宜、工程で生産される実生産試料を定量モデルに追加していくことで、製造工程に関わる物理的因子などの諸条件の情報を学習させ、得られた定量モデルを頻繁に更新することで、予測誤差を適切な範囲内で保証するアプローチが一般

的である(Pietters S *et al.* 2013)。このため、定量モデルの構築のみではなく、実運用のためには、長い時間と継続的なデータの更新作業を必要とする。このように、含量均一性試験に **TNIRS** を適用しようとする際の一つの問題点は、既存法が、計画的な構築というより、むしろ経験的な開発である点にある。これらを解決するためには、現実の製錠工程において処方や構成成分の化学成分量、品質や工程の振れ幅を適切に定量モデルに学習させる必要がある。このためには、定量モデルに対して、錠剤を成形する際に起こりうる任意の因子を検討し、適切に実験系を設計することで、製造時の情報としてデータに含める必要がある。

そこで、本研究においては、計画的で非経験的な設計手法を用いることで、**TNIRS** による錠剤含量均一性試験の工程分析のための多変量解析定量モデルの効率的な構築に関する検討を行った。具体的には、**TNIRS** を用いた定量分析モデルの作成において、最も大きな労力を要するのは、モデル作成に用いる参照試料の作成であることから、これに関する事項を検討した。特に、高い精度を与える定量モデルを作成するためには、30 水準程度の濃度水準が要求されている。先に述べたとおり、定量モデルの作成に用いるデータには、工程の情報をできるだけ含めることが望ましい。したがって、試料はできるだけ、実生産に近い系で作成するアプローチを必要とする。例えば、従来どおり 30 濃度水準の参照試料を用いて定量モデルを作製しようとした場合、参照試料の作成の為に 30 回の実生産機での試料製造が必要となる。しかしながら、実生産機による製造は最低でも数キログラム程度の原料と、仕込むまでの労力が必要になる。この手法を用いた場合、定量モデルに用いるための **NIRS** データ取得に必要な錠剤は、1 水準で 1 錠であるため、原料が大量に

無駄になり、かつ労力が必要になる。したがって、この実機による試料製造法において、濃度水準数を適切に減らすことが可能であるなら、開発の高速化と労力の軽減になりうる。本論では、濃度水準に起因する定量モデル構築用の製造バッチ数を減少させることに関して検討を行った。

第 I 章 第 2 節 実験材料および実験装置

I)-2-1 製錠に関わる情報

製錠に用いた錠剤の処方は、モデル有効成分として、化学的に安定であり、製剤開発時の製造法や処方決定の検討でよく用いられるテオフィリン (theophylline: TEO) を選択した。添加剤として、乳糖 (lactose)、微結晶セルロース (MCC)、コーンスターチ (corn starch) を、また滑沢剤としてステアリン酸マグネシウム (StMg) を用いて製造を行った。製錠は、上記試料の直接混合末を用いて、小ロット用の実生産用打錠機により実施された。打錠圧は 0.8 tons、錠剤重量は 200 mg/錠で平均直径は 8 mm、平均厚みは 3.0 mm であった。すべての試料の供給と製造は、共同研究先の東和薬品株式会社にて実施した。

I)-2-2 錠剤中有効成分の定量分析

定量モデル作成のための定量分析は、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で実施した。試料の測定は、日本薬局方に則り、共同研究先の東和薬品株式会社の設備にて実施した。

I)-2-3 錠剤の透過型近赤外スペクトルの取得

定量モデルに使用した TNIR スペクトルの取得には、フーリエ変換型 NIRS 計 MPA (Bruker Optik GmbH) の錠剤透過モジュールと、専用制御ソフトウェア OPUS6.0 (Bruker Optik GmbH) を用いた。検出は石英製のビームスプリッター、積分球拡散反射モジュール、および光源としてハロゲンランプを備えた室温型インジウムガリウムヒ素 (InGaAs) を用いて行った。各種原料を 22 mm ガラスバイアルに底面より 2 cm 以上の高さになるように詰め、タッピングし、バイアル瓶越しの拡散反射測定を行った。その際、30 ポジションの錠剤専用オートサンプラーを使用して測定した。また、測定波数領域は 7500～11000 cm^{-1} で、分解能は 8 cm^{-1} 、積算回数は 256 回とした。今回検討に用いた錠剤には刻印があったため、その影響を定量モデルに学習させるため、一錠あたり裏表一回ずつ測定を行った。

I)-2-4 定量モデルに使用する波数領域決定のための近赤外分光測定

定量モデルに使用する波数領域を決定するため、各種原料の NIR スペクトルを拡散反射にて測定した。フーリエ変換型 NIRS 計 MPA (Bruker Optik GmbH) の錠剤透過モジュールと専用制御ソフトウェア OPUS6.0 (Bruker Optik GmbH) を用いた。検出は石英製のビームスプリッター、積分球拡散反射モジュール、および光源としてハロゲンランプを備えた硫化鉛検出器 (PbS) を用いて行った。各種原料を外径 22 mm ガラスバイアル瓶に底面より 2 cm 以上の高さになるように詰め、タッピングし、バイアル瓶越しの拡散反射測定を行った。

I)-2-5 定量モデルに使用する処方候補の設計と PLSR モデルの作成

得られた TNIRS データと HPLC で得られた値を PLSR 法により解析し、定量モデルを作成した。PLSR 解析には、OPUS6.0 (Bruker Optik GmbH) に搭載されたケモメトリックスモデル構築用の QUANT2 モジュールを用いた。スペクトル前処理において微分を用いる場合は、Savitzky-Golay スムージング、25 point を用いた (Savitzky A and Golay MJE 1964)。処方候補の決定には、同モジュールに実装された境界条件法をベースとする乱数により候補を算出する Calibration Design 機能を用いた。

第 I 章 第 3 節 結果および考察

I)-3-1 定量モデル用試料の処方設計

本検討で用いた製錠工程において、目標とする処方中央値を主薬濃度として 10 mg/200 mg (5%/dose) とし、予測しうる変動幅を Table I-2 のように決定した。

Table I-2 Target concentration and the range of concentrations for the calibration model of each component.

Component	Target volume (per dose)	Concentration range
TEO	10 mg	5~15 mg
Lactose Monohydrate	104 mg	90~120 mg
Corn Starch	45 mg	35~55 mg
MCC	40 mg	30~50 mg
StMg	1 mg	0.5~1.5 mg

一般的には、よく制御された工程における錠剤の構成成分の濃度はばらつきを持たないものとして扱われる。しかし、物理的な諸条件により、ばらつく可能性も否定できない。しかも、どの成分が特異的にばらつくかなどは予測ができない。特に多変量解析定量モデルを作成する際には、濃度に対する共線性と呼ばれる問題を考慮に入れる必要がある。これは、以下に述べるケモメトリックスモデル構築に関する理論的背景に基づく。

本研究のように、NIRS 法による錠剤の主薬含量を定量するという事を「目的」に設定すると、算出するべき含量値は「目的変数」であり、NIRS データは含量という「目的」を「説明」する変数である「説明変数」となる。ここで、NIRS スペクトルデータは、 m 波長からなる k 番目の試料の吸光度データとすると、ベクトル (x_k) と表現でき、 $x_k = (x_{k1}, x_{k2}, \dots, x_{km})$ として表される。結果として、 n 個の試料群の NIR データは $(n \times m)$ の行列式 X として数値表現できる。

これに対応するラボ分析値 (たとえば HPLC 値など) は項目数 L および試料数 n に対して、ベクトル (y_L) と表現され、 $y_L = (y_{L1}, y_{L2}, y_{L3}, \dots, y_{Ln})$ と表され、行列式 Y として数値表現され、 X との相関関係を多変量解析することで定量分析を実現する (相島, 1991)。模式図を Fig. I -1 に示す。

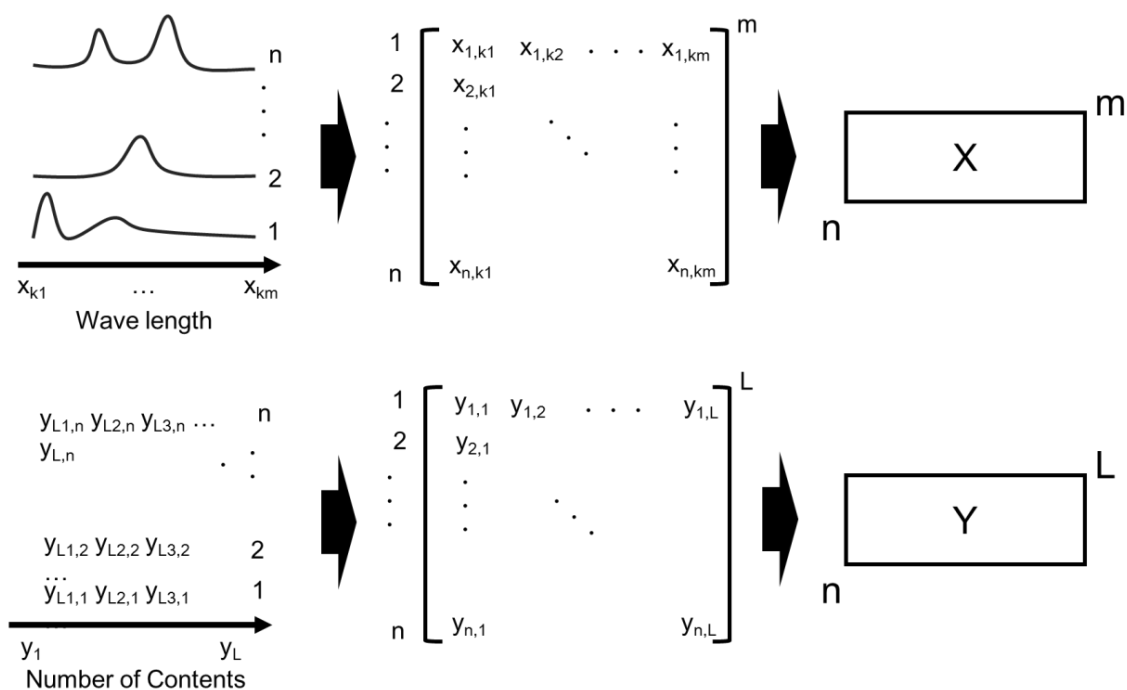


Fig. I-1 Mathematical schematic procedure to convert from the spectrum data and the reference value to matrix.

このときの問題点は、説明変数である NIRS データは、目的成分が 1 成分であったとしても、錠剤そのものは混合物であるため、主薬成分以外の添加物などの各種成分の濃度情報を本質的に含むことである。定量モデルの構築に使う参照試料を作製するとき、目的成分のみの濃度水準を変化させ、その他の添加剤濃度を変化させないとする。例として、主薬をプラセボで希釈するような手順で作製された試料を用いてモデル構築することがあげられる。この場合、目的成分と各種添加剤の成分に、濃度において強い相関が出る可能性があり、これを濃度に対する共線性を持つという。例えば、錠剤内で主薬の濃度が変化せず、その他の成分、例えば他の添加剤である乳糖やスターチの成分比が賦形剤内で大きく変化した錠剤が製造されたとする。この場合、主薬は他成分と濃度で共線性を持つため、濃度に相関して主薬含量値が変化

する可能性がある。逆に、主薬の濃度が目的濃度から大きく変化して製造された場合でも、それに伴って釣り合いをとるように他の各成分が相関して変化した場合、主薬の濃度は目的濃度に一致すると誤って算出されるリスクがある。つまり、共線性を防止するような手順を用いずに作成された定量モデルは、本質的に、目的変数（主薬含量）を特異的に算出するものではない可能性を持つといえる。このことから、目的成分である主薬含量に対して確実な特異性を持たせるためには、各成分が濃度において共線性を持たない成分候補の組み合わせをモデルの開発前の段階から設計する必要がある。

本研究の目的は、濃度水準に起因する定量モデル構築用の製造バッチ数削減の検討である。そのために、濃度水準候補を 30 濃度水準、各水準 1 錠、合計 30 錠である Case 1 と 5 水準、各水準 6 錠、合計 30 錠である Case 2 という 2 系統を計画した。この場合、サンプルの個数は同じであるが、Case 2 においては、濃度水準数が 6 分の 1 となる。それぞれの候補濃度と API に対する相関図をそれぞれ Table I-3 と Fig. I-2 に示す。すべての候補において、相関が低く、共線性が回避されている候補を設計できた。

Table I-3 Overall results of the candidate component in (a) Case 1 and (b) Case 2.

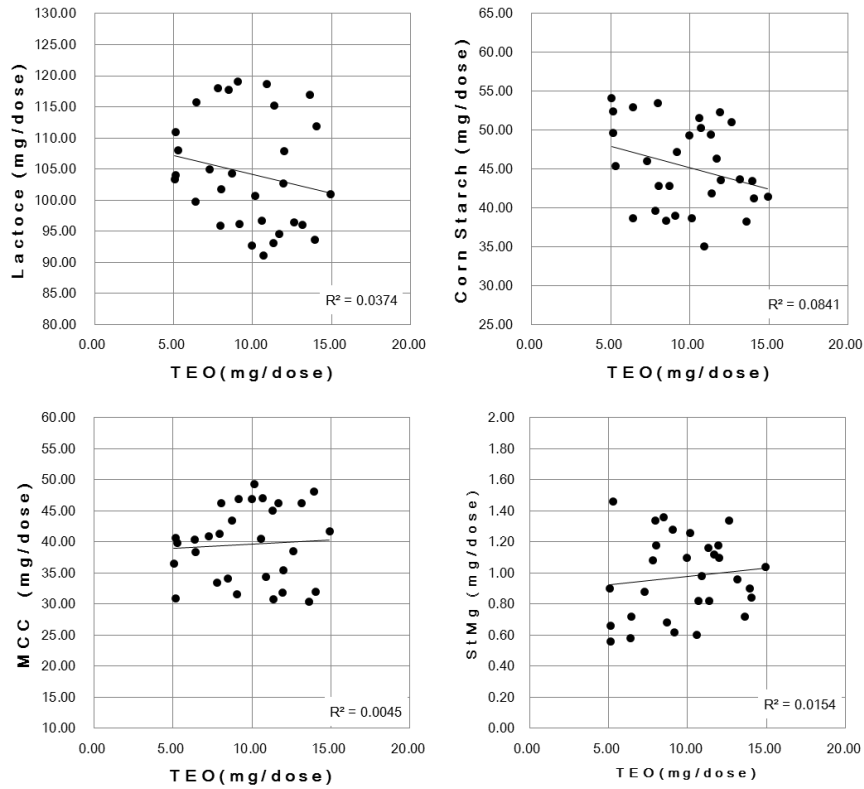
(a)

Sample	API mg/dose	Lactoce mg/dose	Corn Starch mg/dose	MCC mg/dose	StMg mg/dose	# of sample
1	6.42	115.76	38.68	38.42	0.72	1
2	10.70	91.08	50.34	47.06	0.82	1
3	11.32	93.14	49.40	44.98	1.16	1
4	14.92	100.90	41.42	41.74	1.04	1
5	11.98	107.84	43.62	35.46	1.10	1
6	7.82	117.98	39.62	33.50	1.08	1
7	12.64	96.40	51.08	38.54	1.34	1
8	13.94	93.62	43.42	48.12	0.90	1
9	5.16	110.88	52.44	30.88	0.66	1
10	8.04	101.78	42.80	46.20	1.18	1
11	9.18	96.16	47.18	46.88	0.62	1
12	5.28	107.98	45.44	39.84	1.46	1
13	14.04	111.90	41.18	32.04	0.84	1
14	9.08	119.04	38.98	31.60	1.28	1
15	10.14	100.72	38.62	49.26	1.26	1
16	11.38	115.20	41.88	30.72	0.82	1
17	7.96	95.84	53.52	41.34	1.34	1
18	13.14	95.96	43.72	46.22	0.96	1
19	13.60	116.98	38.26	30.44	0.72	1
20	6.40	99.74	52.92	40.36	0.58	1
21	7.28	104.96	45.98	40.90	0.88	1
22	9.98	92.64	49.36	46.94	1.10	1
23	8.72	104.32	42.78	43.50	0.68	1
24	10.90	118.72	35.06	34.34	0.98	1
25	5.16	104.00	49.62	40.68	0.56	1
26	11.92	102.74	52.32	31.82	1.18	1
27	11.68	94.62	46.32	46.26	1.12	1
28	10.58	96.72	51.60	40.50	0.60	1
29	8.50	117.70	38.32	34.12	1.36	1
30	5.06	103.40	54.12	36.54	0.90	1
					Total	30

(b)

Sample	API mg/dose	Lactoce mg/dose	Corn Starch mg/dose	MCC mg/dose	StMg mg/dose	# of samples
1	10.70	91.08	50.34	47.06	0.82	5
2	14.92	100.90	41.42	41.74	1.04	5
3	12.64	96.40	51.08	38.54	1.34	5
4	8.04	101.78	42.80	46.20	1.18	5
5	5.28	107.98	45.44	39.84	1.46	5
6	9.08	119.04	38.98	31.60	1.28	5
					Total	30

(a)



(b)

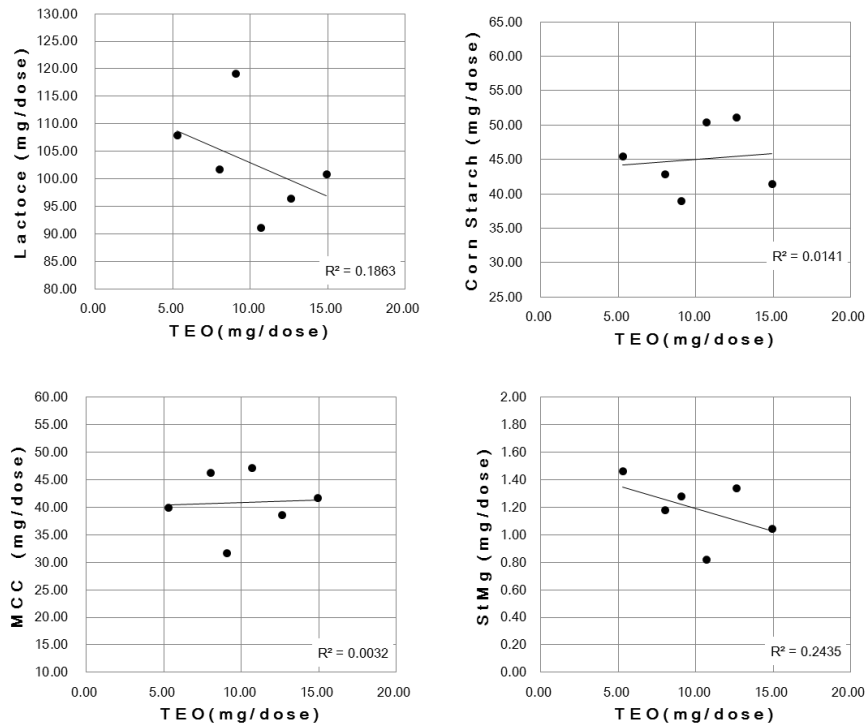


Fig. I-2 Definition of the candidate components for a calibration model by the randomized approach as Case 1(a) and Case 2(b)

I)-3-2 近赤外領域での目的成分のスペクトル解析

分析項目に対する特異性の確認は、分析化学において非常に重要である。多変量解析定量モデルにおいてもその重要性は変わらない。TNIRS は 7000 から 11000 cm^{-1} の倍音、3 倍音の領域を観察可能である。当該領域において、帰属可能な特異的バンドを各種賦形剤と比較したところ、8800 から 9200 cm^{-1} において、テオフィリン構造の芳香環に結合した末端メチル基の CH 伸縮に帰属されるバンドが特異的に観察できた (Fig. I-3)。したがって、定量モデルに用いる領域は、本領域に決定した。

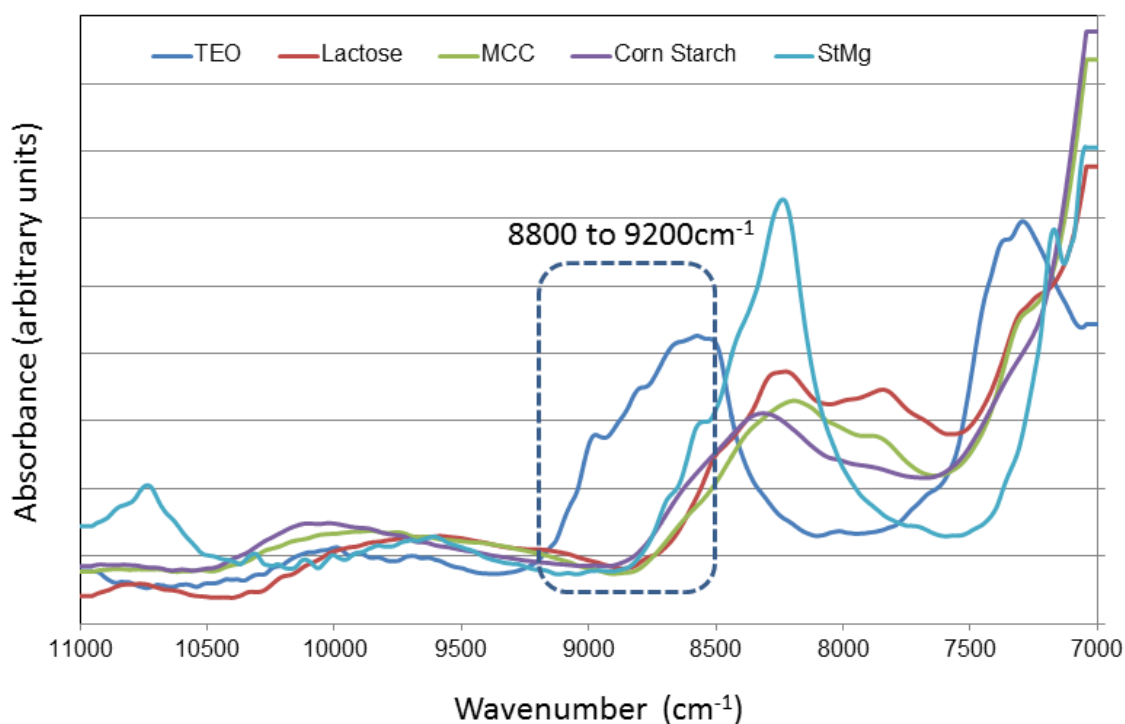


Fig. I-3 Near infrared spectrum of each component of the raw material of the tablets.

I)-3-3 設計候補に基づいた PLSR 定量モデルの開発

参照値として HPLC で算出された含量値を、また、計算に用いるスペクトル領域として TEO の特異吸収帯と帰属された領域を用いて、各種スペクトル前処理による定量モデルの構築を試みた。結果を Table I-4 に示す。

Table I-4 Standard errors and the number of factors for the calibration models evaluated showing Case 1 and Case 2.

Spectrum pretreatment	Case 1			Case 2		
	RMSECV	PLS factor	R ²	RMSECV	PLS factor	R ²
First Derivative	0.154	4	99.9	0.116	4	99.9
First Derivative+SLS	0.190	3	99.8	0.112	2	99.9
First Derivative+SNV	0.129	2	99.9	0.113	2	99.9
Min-Max Normalization	0.190	4	99.8	0.167	4	99.8
Offset Correction	0.165	4	99.9	0.120	4	99.8
Second Derivative	0.204	3	99.8	0.122	2	99.8
SLS	0.154	2	99.9	0.119	3	99.9
SNV	0.259	4	99.4	0.192	3	99.4

定量モデルの解析は交差検定法 (Cross validation) で行い、決定係数 (R²) と PLS 因子数はそれぞれ 99.4 から 99.9、2 因子から 4 因子であった。交差検定における根二乗平均残差 (The root mean square of error of cross validation: RMSECV) は、Case 1 において 0.129 から 0.259、Case 2 においては 0.112 から 0.192 であった。従って、Case 1 は僅かに Case 2 よりモデルとして精度が低い可能性が示唆された。スペクトル前処理と残差の関係では、一次微分処理が大きく残差の低下に貢献し、正規化処理はもっとも高い残差を与えた。しかしながら、これらの精度残差における結果の違いは、参照値のばらつきを鑑みても非常に小さいものであり、ほぼ同等に取り扱えた。したがって、残差だけではなく、因子数も同様に着目し、Case 1 においては 1 次微分 + SLS 処理、Case 2 においては、1 次微分 + SNV 処理を選択した。得

られた交差検定後のそれぞれの定量モデルの結果を Fig. I-4 に示す。

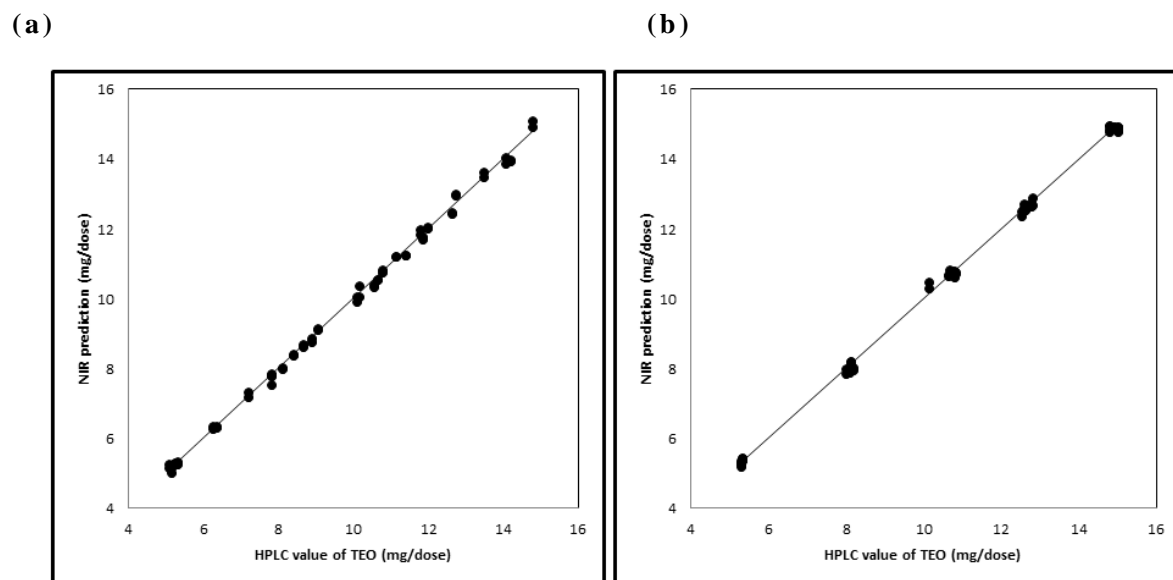


Fig. I-4 Calibration model by cross validation: HPLC result was used as a reference showing (a) Case 1 and (b) Case 2.

I)-3-4 PLSR モデルの特異性に関する検討

今回用いた PLSR モデルは、1960 年代 Wold. H によって計量経済学の方法として開発され、おもに化学工学者や計量化学者たちによって利用され発展してきた (Kowalski BR *et al.* 1980; Kettaneh N *et al.* 2005)。この PLSR アルゴリズムは、I)-3-1 にて述べたケモメトリックスモデルの基本概念と同様に取り扱うことが可能である。以下に、その特異性に関する理論を考察する。先に示したように、説明変数 (スペクトルデータ) は X 、目的変数 (今回は錠剤の主薬含量値) は Y という行列式に変換し、数的表現が可能であることはすでに示した。これらから X の線形関数と Y の共分散が最大になるようなスコアベクトル t_i を求め、そこから X と Y についてのローディングと呼ばれる因子を示す数値成分 p_i^T 、 q_i^T を求める。これらの条件で、ベクトル X 、 Y をそれぞれ再構成すると、(1-1) と (1-2) のように示せる。

$$X = \sum t_i p_i^T + F \quad (1-1)$$

$$Y = \sum t_i q_i^T + G \quad (1-2)$$

ここで、 F と G はそれぞれの再構成ベクトルの残差成分である。ここでいう残差は、本質的に化学成分を説明するだけではなく、物理ノイズなども説明する成分である。PLSR のアルゴリズムは、 X についての F が最小になるように (1-3) と (1-4) を用いて p_i ならびに q_i を計算する。

$$\sum p_i = \sum \{ (X^T \cdot t \ I)^{-1} \cdot t_i^T \cdot t_i \} \quad (1-3)$$

$$\sum q_i = \sum \{ (Y^T \cdot t \ I)^{-1} \cdot t_i^T \cdot t_i \} \quad (1-4)$$

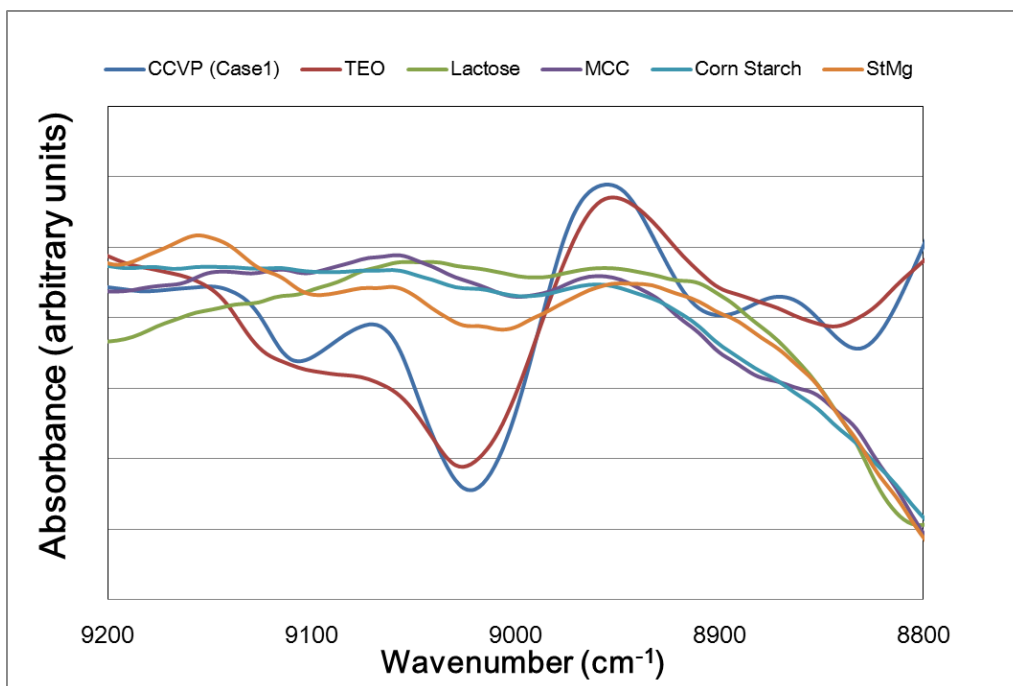
Y と X について、スコアベクトル t_i は共通である。結果として、濃度予測値 C を求める回帰式は (1-5) のようになる。

$$C = \sum t_i q_i^T \quad (1-5)$$

したがって、各因子のローディングベクトル成分の合成関数 $\sum q_i$ は、相関係数（回帰係数）ベクトル（The correlation coefficient vector profile: CCVP）と呼ばれるパラメータになる。ここで、第一ローディング成分は理論的に残差 $G \doteq 0$ であれば回帰係数ベクトルと概ね一致する。このとき、残差を説明するローディング成分を必要としない。あるいは、第一ローディング成分のモデルに対する寄与率が高く、他の成分が、物理ノイズを補償する成分であり、化学的寄与を無視することのできるような場合、第一ローディング成分も、CCVP と同様に取り扱う場合がある。結論として、成分に対する定量モデルの特異性は、CCVP とラボ分析値が目的とする項目（本研究においてはテオフィリン：TEO）の実測スペクトルを比較することにより確認できることになる。

この理論を背景にし、それぞれの PLSR モデルから得られた CCVP の結果と、錠剤の構成成分のスペクトルをそれぞれの定量モデルと同じスペクトル処理したプロファイルと比較した (Fig. I -5)。その結果、Case 1、Case 2 双方のプロファイルは、TEO と類似しており、他の成分のプロファイルとは一致しない特異的なプロファイルを与えた。したがって、得られた定量モデルは、今回の実験に使用したモデル製剤の賦形剤においては、TEO に対し、化学的に特異性を持つモデルであることが明らかになった。

(a)



(b)

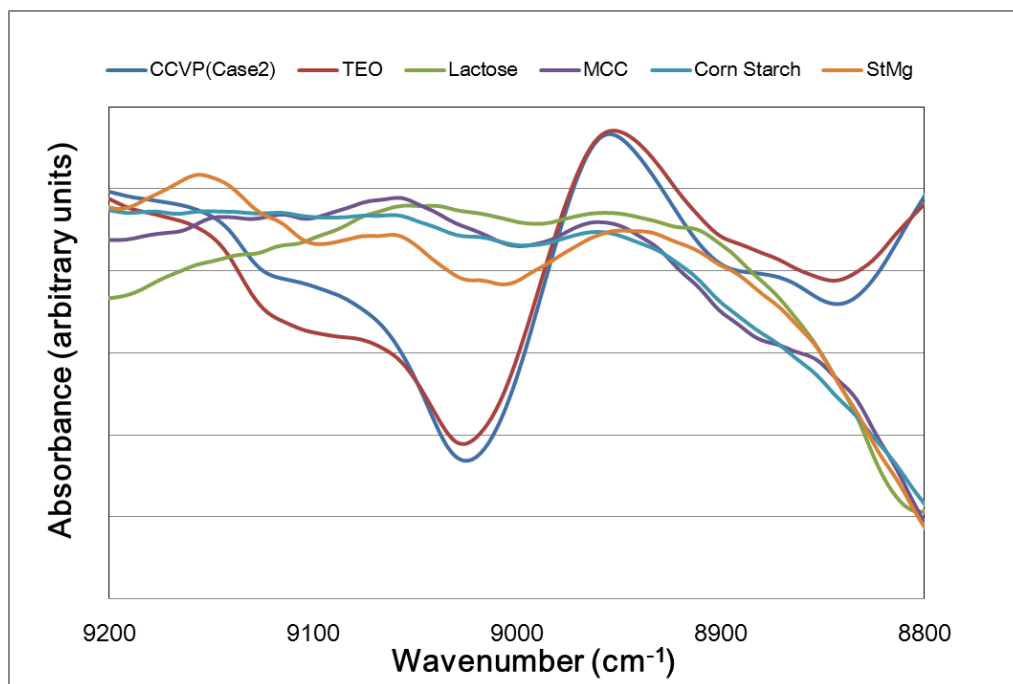


Fig. I-5 Correlation coefficient vector profile (CCVP) of PLSR and the spectra of each component showing (a) Case 1 and (b) Case 2.

I)-3-5 外部検定試料による PLSR モデルの予測性能の比較検証

両定量モデルにおける予測値の誤差を検定するために、別に作成した検定用サンプル（外部バリデーション）5錠を用いて、その錠剤の含量を測定した HPLC 値（参照値）からの誤差（ずれ）を検討した（Table I-5）。Case 1 の場合、HPLC 値に比較して NIR 値は低くなる傾向を示し、その誤差は 0.05～0.09 の範囲であった。一方、Case 2 の場合には NIR 値の方が高い傾向を示し、その誤差は -0.09～0.01 の範囲であった。NIR 予測値（Case 1 並びに Case 2）の 95% 信頼区間はそれぞれ 9.79～9.98（中央値：9.89）及び 9.93～10.12（中央値：10.03）であり、両定量モデルにおける予測性能に有意な差は認められなかった。

Table I-5 Standard errors and number of factors for the calibration models' evaluation of the test samples showing (a) Case 1 and (b) Case 2.

(a)

Sample No	HPLC (mg/1dose)	NIR prediction (mg/1dose)	Error (mg/1dose)
1	9.99	9.94	0.05
2	9.95	9.86	0.09
3	9.78	9.71	0.07
4	9.95	9.93	0.02
5	9.99	9.99	0.00
Mean			0.046
SDV			0.040

(b)

Sample No	HPLC (mg/1dose)	NIR prediction (mg/1dose)	Error (mg/1dose)
1	9.99	10.08	-0.09
2	9.95	9.94	0.01
3	9.78	9.81	-0.03
4	9.95	10.04	-0.09
5	9.99	10.01	-0.02
Mean			-0.044
SDV			0.070

第 I 章 第 4 節 小括

含量均一性を確認する試験は製剤の品質の担保において重要な役割をもつ。特に工程内試験への非破壊分光分析の導入は品質試験の簡略化や出荷期間の短縮などに大きく貢献できるものと期待されている。しかし、その一方で NIR などの分光技術の定量予測への適用では、その定量モデルの構築に人的及び時間的労力を費やすことも多く、また多変量解析などを利用する性質上、分析結果の信頼性の確保に十分に配慮する必要がある。そのため従来の手順を用いた場合、最適な定量モデルの構築に多大な時間を費やすことから結果的に導入を断念するケースも少なくない。

本研究では、テオフィリンを有効成分のモデル系とし、TNIR を用いた錠剤の含量均一性試験のための PLSR モデルの効率的な設計と構築について検討し、一定の成果を得た。結果を以下のようにまとめる。

- 1) 各成分が目的成分であるテオフィリンと共線性を持たないように、あらかじめ定量モデルに用いる処方適切に設計することが可能であった。
- 2) 試料総数が同等である 2 つのケース、つまり、濃度水準が 30 水準×1 錠である Case 1 と 5 水準×6 錠である Case 2 の 2 つの条件を検討した結果、いずれも、低い残差と高い相関係数を持つ定量モデルを作成できることを確認した。
- 3) 作製した定量モデルの CCVP と目的成分であるテオフィリンの実測スペクトルとの比較により、定量モデルのテオフィリンに対する特異性を確認できた。

- 4) 定量モデルの性能を外部試料により検証した結果、一定の誤差(ずれ)を持ちつつも、参照試料の作成水準数を減らしても、予測性能として同様な性能が維持されることを示せた。

今回得られた TNIRS を用いた定量モデル開発法は、目的項目が主薬の一成分の場合にだけ適用できるのではなく、各種添加剤や、ほかの API が混合している錠剤中の任意の化学成分を同時に分析する場合にも、適用できる可能性があると考えられる。その目的に適用する場合、今回と同様に、錠剤中の各対象成分及び各化学成分のスペクトル帰属や、成分の濃度について検討する必要がある。

以上、適切な実験計画と最適なスペクトル処理を選択するアプローチを用いることにより、TNIRS による錠剤の含量均一性試験のための多変量定量モデルをより迅速かつ効率的に開発可能であることが示せた。

第 II 章

リアルタイム近赤外分光法を用いた打錠機の原料供給フィーダー管におけるステアリン酸マグネシウムの定量的検出

第 II 章 第 1 節 序論

製薬工業においては、2004 年以来、十分に製品を理解し、工程を監視するための革新的な技術を採用し、良好な製造工程を開発するための革新的フレームワークとして、工程解析技術 (Process Analytical Technology: PAT) による製造プロセスの分析と制御が注目を集めている (Callis JB 1987)。さらには、この PAT フレームワークを用いることで、工程改善に伴う歩留まりの向上や、正確なプロセスの把握が可能である。PAT を実現するためには、科学的な理解に基づいて、プロセス挙動を検出することが必要である。この背景には、従来用いられてきた最終製品を計測することでプロセスを予測するアプローチではなく、頻度高くインラインまたはオンラインリアルタイム監視センサまたはアナライザを利用することにより工程の挙動を「直接」観察することが望ましいと提唱されるようになったことがある。リアルタイム式の NIRS 法は PAT 技術として適用可能だといわれるツールのなかでも、特に、固体剤形中の化学成分の変動を直接的に分析可能であることから、適用が期待されている分析技術である (Luypaert J *et al.* 2007; Tok AT *et al.* 2008; Moes JJ *et al.* 2006; De Beer T *et al.* 2009; Lee MJ *et al.* 2010; Burggraeve A *et al.* 2013)。NIR 光は、ガラスや石英を透過する。したがって、汎用の石英やガラス光ファイバーでの光信号の輸送も許容される (Aggarwal I D *et al.* 1991)。上記の光フ

ファイバーを用いたプローブタイプの NIRS は、測定点などを小さくすることが可能であり、狭く小さな測定点でも監視系の構築が容易である。したがって、プロセスに負荷をかけずに設置できるという技術上の利点も大きい。

一方、滑沢工程においては、緒論で述べたように、滑沢剤の一種であるステアリン酸マグネシウム (StMg) の濃度変化により、圧縮された錠剤の錠剤圧縮性の変化、溶出障害などの重大な問題につながる可能性が潜在的リスクとして考えられる (Bolhuis GK *et al.* 1981; Mollan MJ and Çelik M 1996; Mehrotra A *et al.* 2007)。これまでに検討されてきた NIRS を用いた StMg の評価法は、製錠後の錠剤表面の化学的な分散状態をケミカルイメージングで評価する手法と、主にはブレンダーに直接装置を組み付け、混合均一性をリアルタイムで調査する方法の 2 種に大別される。なかでも、リアルタイム式の NIRS 監視技術に関する検討は、混合機内での均一性や、混合挙動のモニタリングといった定性的な傾向を分析する方法として取り組まれてきた (Amigo J M *et al.* 2009; Green R L *et al.* 2005; Sekulic SS *et al.* 1996; Hagrasy ASH *et al.* 2006; Nakagawa H *et al.* 2013)。上記の検討事例は、スペクトルの挙動やキャリアレーションモデルの変化に応じて混合器内部における StMg の挙動を検出し、解析、評価するものか、あるいは、製錠されてきた最終生成物を評価して工程を予測する手法であった。しかし、滑沢工程は、製錠 (打錠) 工程の前に実施される。滑沢を終えた原料粉末は、混合機から空気輸送や人の手による移動などを含む何らかの粉体ハンドリング操作を経てから、打錠機のフィーダーと呼ばれる粉体供給部位に供給される。フィーダーと、打錠 (圧縮成形) 部 (臼・杵) はフィーダー管と呼ばれる管状の粉体輸送機構で接続されていて、その管の中を粉体が流動しつつ、打錠部に供給される。また、

このため、潜在的リスクを鑑みると、滑沢工程から打錠機への移動の際における粉体のハンドリング状態や管内における粉体の流動状態などにより、打錠直前の粉体における **StMg** の濃度変化が起こる可能性が考えられる。この濃度変化が起因して、錠剤の圧縮性や溶出異常などといった重大な問題をもたらす可能性があるが、この濃度変化を監視する方法については技術的な観点などから、これまで検討はなされていない。緒論で述べた **ICH** や他のガイドラインにおいても、できる限り、リスクの算出に基づいた予防措置による、堅牢で安全性高い工程構築を実現するべきと述べられている。このことから、本研究においては、上記のリスク因子として示唆される製錠工程におけるフィーダー管での濃度変化に着目し、リアルタイム式 **NIRS** による **StMg** の濃度変化の定量モニタリングについて検討した。

第 II 章 第 2 節 実験材料および実験装置

II)-2-1 成分処方および製錠条件

本実験における錠剤の処方では、モデル有効成分 (Active Pharmaceutical Ingredient: API) として、化学的に安定であり、製剤開発時の製造法や処方決定の検討でよく用いられるテオフィリン (theophylline: TEO) を選択した。また、添加剤として、乳糖 (lactose)、微結晶セルロース (MCC)、コーンスターチ (corn starch) を用い、結合剤として、ヒドロキシプロピルセルロース (HPC-L) を、滑沢剤としてステアリン酸マグネシウム (StMg) を用いた。製錠実験は、上記試料で作製した流動層造粒末を用いて、小ロット用の実生産用打錠機により実施された。打錠圧は 0.8 tons、錠剤重量は 200 mg/錠で平均直径は 8 mm、平均厚みは 3.0 mm であった。すべての試料の供給と製造、およびリアルタイム NIR スペクトルの取得は、共同研究先の東和薬品株式会社にて実施した。

II)-2-2 リアルタイム近赤外スペクトルの取得

定量モデル作成および、リアルタイム NIR スペクトルの取得は、いずれも、フーリエ変換型 NIRS 計 MPA (Bruker Optik GmbH) と粉体測定用の拡散反射ファイバースプロブを用いて行った。測定制御には専用制御ソフトウェア OPUS6.0 (Bruker Optik GmbH) を用いた。検出は、石英製のビームスプリッター、積分球拡散反射モジュール、および光源としてハロゲンランプを備えた室温型インジウムガリウムヒ素 (InGaAs) を用いて行った。ファイバースプロブ長さは 1.5 m であった。スペクトル分解能は 8 cm^{-1} 、積算回数は 16 回

(約 5 秒/1 スペクトル) で、測定波数領域は $4500\sim 10000\text{ cm}^{-1}$ とした。

II)-2-3 StMg 定量用の部分最小二乗相関法 (PLSR) モデルの作成

定量モデルを構築するための PLSR 解析には、OPUS6.0 (Bruker Optik GmbH) に搭載された QUANT2 モジュールを用いた。

第 II 章 第 3 節 結果および考察

II)-3-1 StMg 定量用 PLSR モデルの開発

定量モデル構築のための目標値および処方設計値を Table II -1 に示す。滑沢工程の前に造粒を行い、目標とする API の濃度は $20\text{ mg}/200\text{ mg}$ ($10\text{ wt \%}/\text{dose}$)、StMg は $1\text{ mg}/\text{ml}$ ($0.5\text{ wt \%}/\text{dose}$) と設定した。この設定値を考慮に入れた造粒末の定量モデルの候補値を Table II -2 に示す。テストセット検定後のキャリブレーションセット、およびテストセット検定を行った相関図を Fig. II -1 に示す。PLSR 定量モデルの作成に用いた参照値には、重量百分率 (wt %) を用いた。定量モデルの検定は、実プロセスへの適用を考慮に入れ、テストセット検定法で実施した。解析パラメータについては、スペクトル範囲を $7598\sim 5326\text{ cm}^{-1}$ 、データの前処理を Savitky-Golay スムージング 25 ポイントで二次微分と決定した (Savitky A and Golay MJE 1964)。その他、用いたパラメータを Table II -3 に示す。PLSR モデルの精度は、決定係数 (R^2) で 96.72% 、検定セットにおける根二乗予測平均誤差 (The root mean squarer of error of prediction: RMSEP) で 0.035% であった。

Table II -1 Proportions of the components of the formulation used in the investigation.

Components	Target volume (mg/dose)	Percentage (wt %)
Teophiline	20.0	10.0
Lactose	98.0	49.0
Corn starch	41.0	20.5
MCC	36.0	18.0
HPC-L	4.0	2.0
StMg	1.0	0.5
Amount	200.0	100.0

Table II -2 Target concentration and the range of concentrations used to determine the calibration model of StMg.

Weight of granule (mg/dose)	Weight of StMg (mg/dose)	Percentage of StMg (wt %)
199.0	0.5	0.25
199.0	0.6	0.30
199.0	0.7	0.35
199.0	0.8	0.40
199.0	0.9	0.45
199.0	1.0	0.50
199.0	1.1	0.55
199.0	1.2	0.60
199.0	1.3	0.65
199.0	1.4	0.70
199.0	1.5	0.75

Table II -3 Standard errors, coefficient of determination (R^2) and the number of factors for the PLSR calibration models evaluated.

Calibration		Validation	
Dosage range (wt %)	0.25-0.75	Dosage range (wt %)	0.25-0.75
No. of spectra	39	No. of spectra	48
No. of PLS factor	4		
R^2 (%) (*)	97.48	R^2 (%) (*)	96.72
RMSEE (wt %)	0.023	RMSEP (wt %)	0.035

(*) Coefficient of determination

Data Pretreatment : Second derivative + 25 smoothing point

Spectrum Range (cm^{-1}) : 7598 to 5326 cm^{-1}

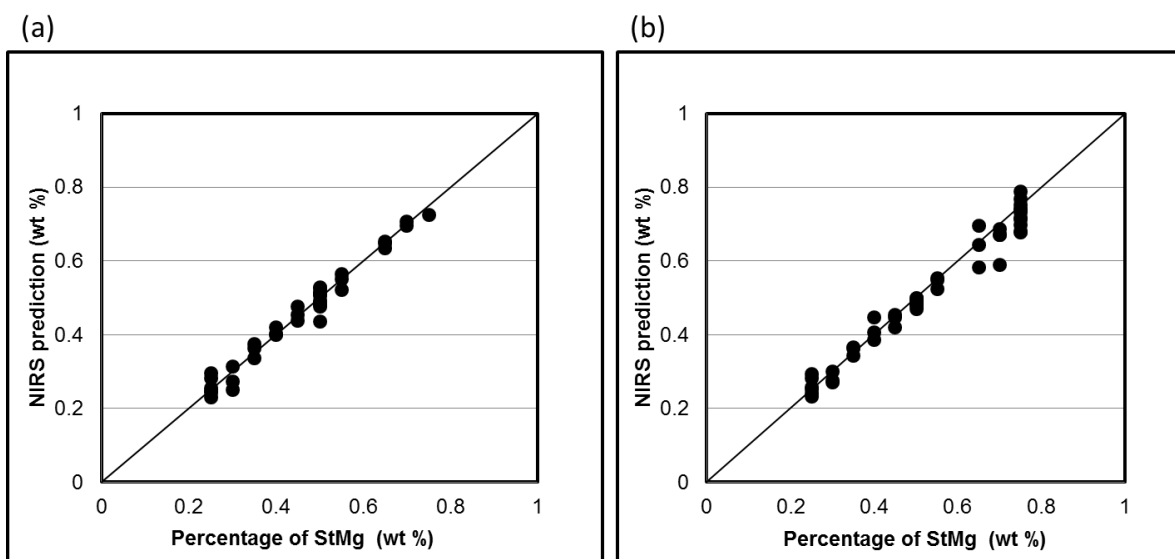


Fig. II -1 Calibration model obtained by cross validation: the volume percentage of StMg (wt %) was used as a reference. (a) Calibration set, (b) Validation set.

作成した PLSR 定量モデルの目的成分 (StMg) の特異性を検証するため、PLSR 第 1 因子プロファイル (第 1 Loading) とスペクトル前処理後の各成分のスペクトルを比較した結果を Fig. II -2 に示す。定量モデルにより算出された第 1 Loading は、他の成分と比較して StMg と類似したプロファイルを与えた。したがって、この結果から、今回作成した PLSR 定量モデルは StMg に特異的な成分と同様の因子を、主に計算に用いていることが示唆された。

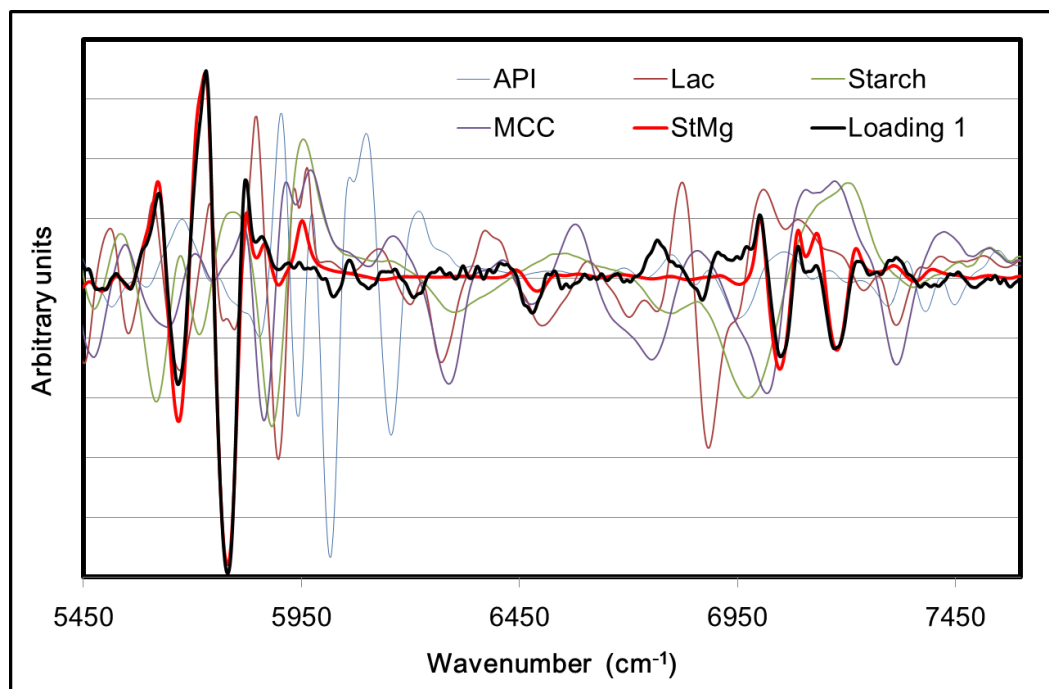


Fig. II -2 Loading 1 of PLSR and the spectrum of each component. The profiles of Loading 1 and StMg are similar.

II)-3-2 打錠機のフィーダーにおけるリアルタイム NIR 分析による StMg 含量のリアルタイムモニタリング

モニタリングシステムのプローブの設置概略図を Fig. II -3 に示す。錠剤の原料造粒末中の StMg の濃度が目標値である 0.5 wt% となるように配合し、フィーダー管に沿って移動する粉体の NIR スペクトルを 5 秒間隔で 500 秒間取得した。

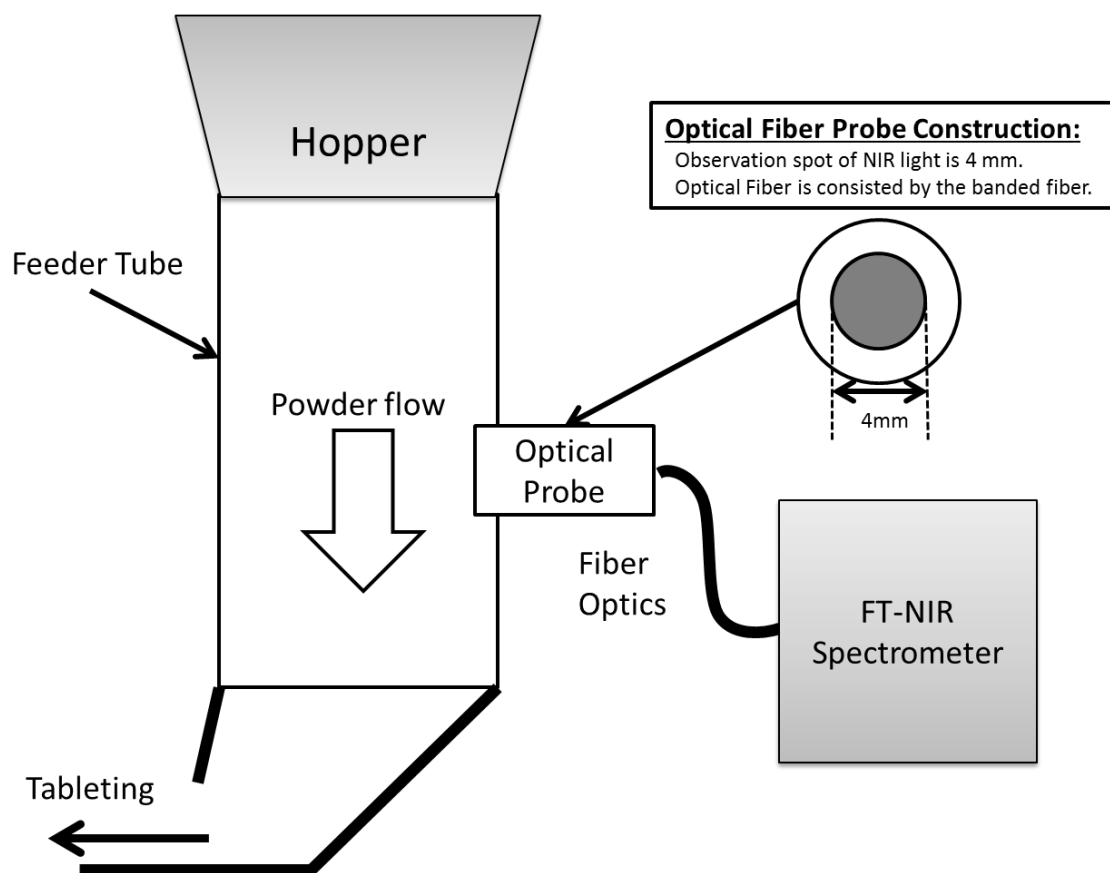


Fig. II -3 Schematic diagram of the real-time monitoring system for StMg in the feeder tube.

はじめに、測定システムの性能を検証するために、定量モデルに用いた 0.5 wt% のスペクトル、測定開始時のスペクトル、測定終了直前時のスペクトルの 3 種を比較した (Fig. II -4)。それら 3 種のスペクトルは、定量モデルの計算に使用した領域において同様の信号レベルとノイズレベルを示したことから、移動しながら計測する場合においても十分なスペクトル品質が得られることが示唆された。Fig. II -5 には、実際のリアルタイム監視データから得られた予測値の挙動を示す。平均値は 0.51 wt% であり、標準偏差は 0.027% であった。

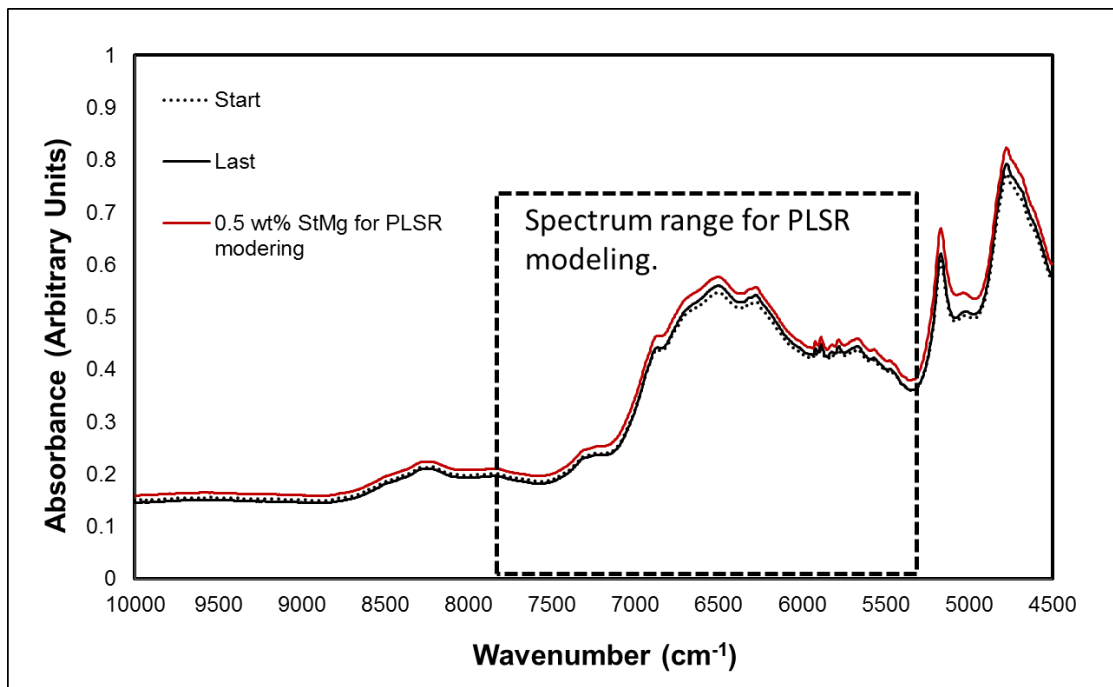


Fig. II -4 Comparison of the spectra of powder in the feeder tube and the spectrum used for the PLSR model.

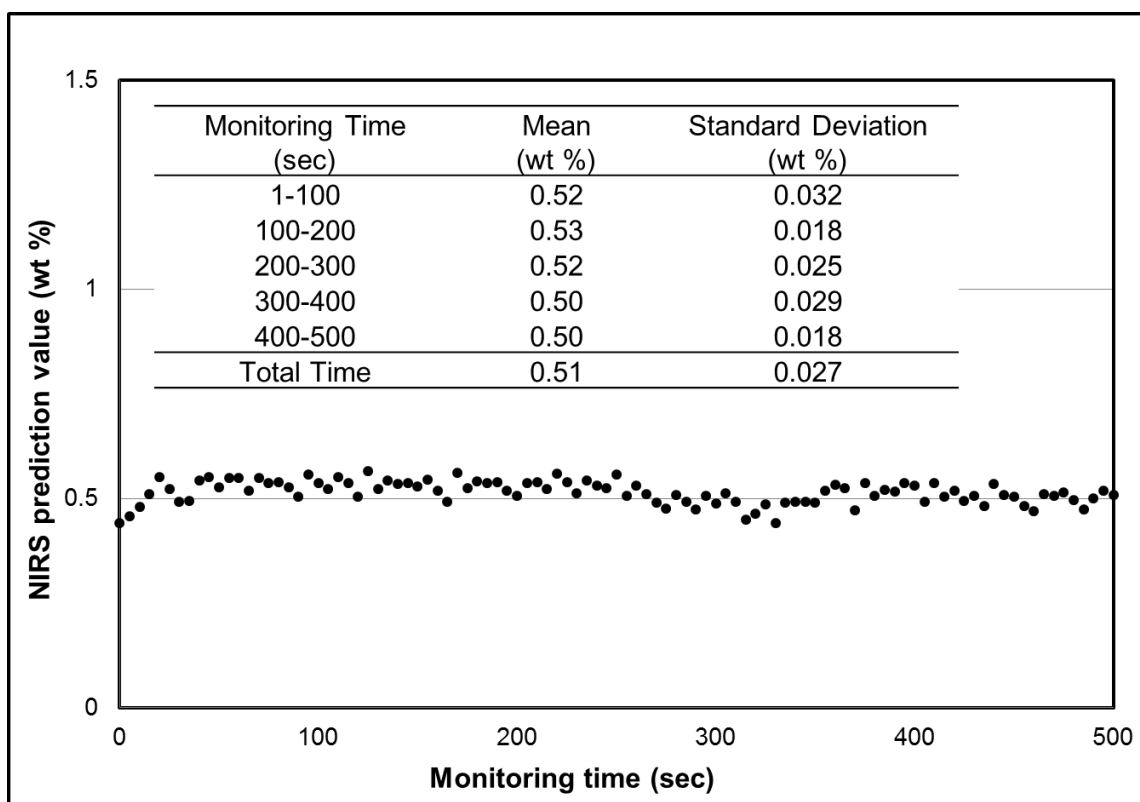


Fig. II -5 Result of the real-time monitoring of StMg in the feeder tube of tableting equipment by real-time NIRS.

II)-3-3 リアルタイム NIR 分析による StMg の濃度変化検出試験

打錠機のフィーダー中における StMg の濃度変化を追跡する検討を行った。その検討では、StMg を過剰に加えた粉末を恣意的に実験開始の約 75 秒経過後、ホッパーに添加するという手法をとった。時間分解能は 5 秒/スペクトルで、総監視時間は 225 秒とした。その結果を Fig. II -6 に示す。StMg の濃度が変化した場合、迅速に濃度エラーを検出することが可能であることが分かった。

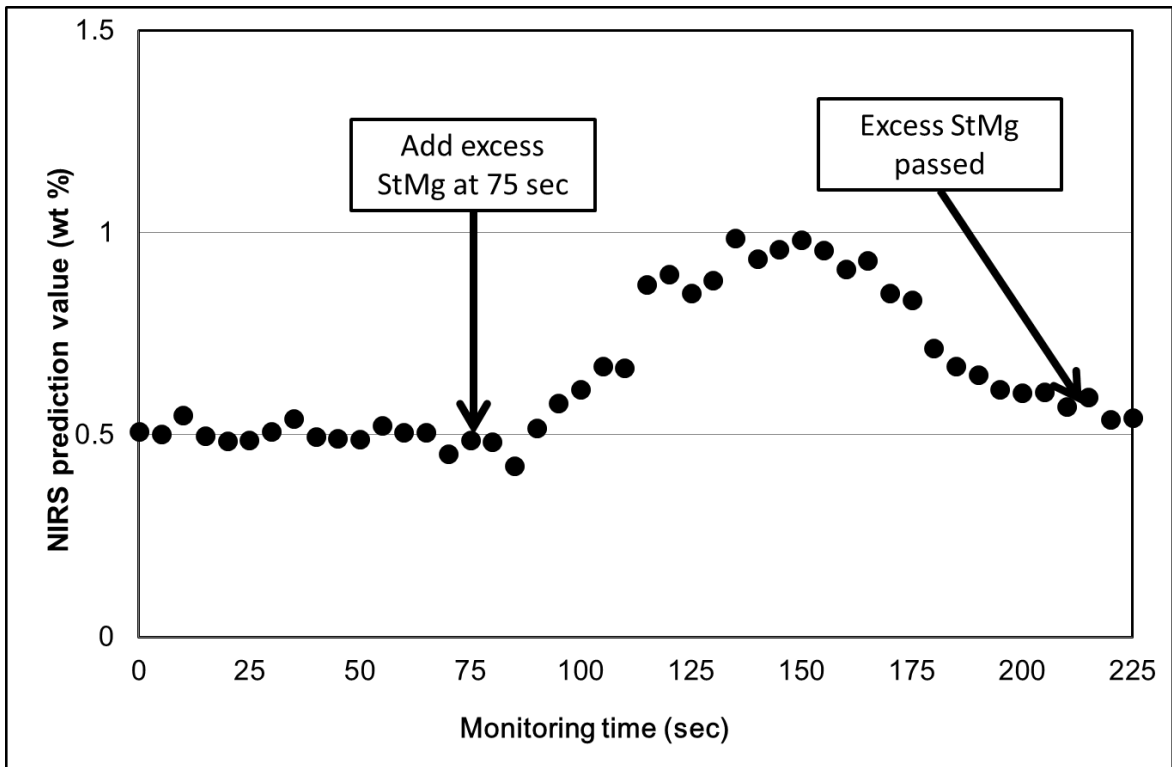


Fig. II -6 Trial of error detection in terms of a change in the concentration of StMg detected by real-time NIRS.

第Ⅱ章 第4節 小括

錠剤中の滑沢剤、特に疎水性である StMg の状態が変化することが原因で、錠剤の物性が受ける影響は少なくない。したがって、滑沢工程における滑沢状態の直接的な解析や、最終製品における錠剤上の滑沢剤の分散状態の計測などは重要である。また、粉体のハンドリングなどに伴ういくつかの要因で、StMg の濃度変化が起きる潜在的なリスクをもつ可能性が考えられるため、その濃度変化の監視もまた重要である。このため、本検討においては、打錠前の原料粉体供給用のフィーダー管にリアルタイム NIRS に基づく監視プロブシステムを設置することにより、打錠直前での StMg の定量的なモニタリングが可能かについて検討した。結果を以下にまとめる。

- 1) 今回用いた処方においては、NIRS を用いることで、目的成分である StMg の監視に用いる PLSR 定量モデルを作成することが可能であり、そのモデルの実用精度は十分で、StMg に対する特異性があることを示した。
- 2) リアルタイム NIRS を用いることにより、フィーダー中をフィーダー管に沿って移動している粉体であっても、実用的に監視可能なスペクトルを取得することが可能なことを示した。
- 3) 目的濃度の StMg を含んだ粉体を流しながらそのモニタリングについての可能性を検証した結果、PLSR モデルによる予測値の予測性能は RMSEP の範囲を超えず、目的濃度を適切に捉えることが示唆された。

- 4) 試料に対して恣意的に過剰の StMg を含む粉体を加え、濃度変化の検出の可能性を検討したところ、数秒の時間分解能で、濃度の変化挙動を迅速に捉えることができた。

以上、本研究により、リアルタイム NIRS を利用することで、一般的な製錠工程において打錠前に粉体供給フィーダー内で潜在的に起きる可能性のある、StMg の濃度変化を検出するための工程分析法を構築できることを示した。これは、序論で述べた ICH や FDA による各種ガイドラインが述べているような、リスク評価や科学的なアプローチに基づいて工程構築や制御がされるべきである、という指摘に適切に対応したものと考えている。

総括

緒論で述べたように、日本における医薬品の生産量の 5 割近くを占める錠剤は、材料として複雑系である粉体を主に使用し、また、有効成分のみではなく、各種添加剤の複合成分を混合して作製される。従来の工程構築やその管理などには、技術者の経験や勘に依存する部分が存在することから、それらは試行錯誤で行われてきた。また、工程内で問題が発生した場合には、潜在的に起こりうるリスクを初めに科学的に解析するより、逐次的な対応が実施される場合が多い。このような従来のアプローチは、時間や労力を必要とすることを意味する。このため、工程への適切な分析技術を導入することは、工程の効率化や生産性の向上、製剤開発速度の高速化といった恩恵のみならず、リスクヘッジに基づいた問題解決にもつながる可能性があることから、その意義は非常に大きいと思われる。

本研究では、固形製剤製造工程のなかでも、製錠工程に着目し、NIRS を適用することによる効率的な工程分析やリスク回避などを実現することを目的として 2 つの検討を実施した。

第一の検討は、NIRS の含量均一性試験への適用である。複雑系である粉体の各種単位操作の組み合わせで構成されている製錠工程においては、重要な項目として、打錠後の錠剤の有効成分濃度の 1 錠毎のばらつきの監視が考えられる。現状では工程内で迅速分析する手法がなく、サンプリングされた試料を製造後に分析するため、製造される錠剤中の含量を製造中に監視することは困難である。透過型近赤外分光法 (TNIRS) はケモメトリックスによるモデリングを用いた定量分析法の適切な構築を行うことで、従来の分析法と

比較して迅速な工程内での錠剤中の含量分析が期待できる手法であるが、その定量分析法の構築には労力を要するとされてきた。

そこで、本研究の第 I 章での検討では、透過型近赤外分光法 (TNIRS) を含量均一性試験に適用するための多変量解析定量モデルの効率的な開発を試みた。具体的な実験系としては、物理要因を定量モデルに効率的に学習させる必要があるため、単発打錠機ではなく、実生産機を用いることとした。課題としたのは、定量モデルを作成に必要な試料の実生産機による作製に関して、その生産 (実験) 回数 (製造バッチ数) を削減することである。実生産機で試料を作製する場合、最低でも総量でキログラムスケールの材料が必要であり、必要な錠剤はごくわずかなため、多くの原料や錠剤が無駄になる可能性がある。さらには、共線性を回避するために複数の成分を一つ一つ微量に変化させつつ仕込む必要があり、かつ、定量モデルの濃度水準数を満たすために製造実験回数を繰り返すことになるため、分析手法の構築において大きな負荷となる。本研究においては、この点に着目し、実生産機を用いた定量モデルの作成に必要な製造バッチ数 (濃度水準数) の削減を計画し、製造バッチ数を従来必要とされていた 30 水準から、5 水準と 6 分の 1 に減らしても、化学的特異性を有し、錠剤中の目的成分含量値の計測性能が同等な定量モデルを構築できることを示した。

第二の検討として、滑沢剤の一種である StMg の濃度変化検出に対する検討を行った。この StMg の濃度の評価目的を検討内容にしたのは、StMg の異常挙動が錠剤の溶解性の異常を起こす可能性があるためである。具体的には、StMg が錠剤表面に多く存在する、あるいは、錠剤に大量に加えられた場合に、溶けにくく崩壊しづらい、溶ける速度が安定しない、などの問題が考えられ

る。したがって、このリスクを回避するためには、StMg の濃度を迅速に製造工程中で監視することが非常に有効である。特に、打錠直前のフィーダー管における粉体ハンドリングに起因する濃度変化は無視できない因子であるため、第 II 章では錠剤原料中に含まれる StMg の打錠直前のフィーダー管におけるリアルタイム NIRS による監視を検討した。

初めの検証として StMg 定量モデルについて検討した結果、その定量モデルをフィーダー内で動く粉体の計測に用いても、一定の性能を持つことを確認した。その後、恣意的に粉体に StMg を加え、濃度変化を数秒単位の時間分解能で計測することが可能であることを確認した。本研究の意義は、検討した場所にて StMg を定量的に計測できたことを単に示したことにとどまらないと考える。なぜならば、本検討の結果は、工程内に粉体を用いる工程があり、何らかの成分が粉体のハンドリングに伴って潜在的に変動する可能性がある場合に、光ファイバータイプの NIRS を用いることで、定量的なリアルタイム監視法を構築できる可能性を示しているためである。

上述のように、本研究では、固形製剤の工程分析への NIRS の適用について、製錠工程に着目して検討し、成果を得ることができた。ここで得られた知見は、製錠工程において NIRS を応用できることを単に示すのではなく、NIRS を工程分析法として適切に用いることで、主な原料として粉体を用いる各種の固形製剤の製造工程、例えば顆粒化などといった工程に対しても、効率的に構築や制御が可能であることを示す。特に固形製剤の工程分析に対して NIRS を用いる手法は医薬品分析の分野では比較的新規であり、適用法に関してはいまだ発展途上にあることから、本研究での成果は、NIRS を広く工程分析へ適用するための有益な知見の一つとなり得るものであり、将来的に

工程改善や効率化へ大きく貢献するものと期待される。

謝辞

本研究の主査として本論文のご審査を賜りました昭和薬科大学薬剤学研究室 渡辺善照教授に深謝の意を表します。副査として本論文のご審査を賜りました昭和薬科大学薬品作用学教育研究室 堀口よし江教授、同薬品物理化学研究室 秋澤宏行教授に深く感謝いたします。

本研究の遂行に当たり、多大なる協力を頂きました東和薬品株式会社 中山幸治様に深く感謝いたします。

本論文の執筆にあたり、多大なるご指導を賜りました昭和薬科大学 薬品分析化学研究室 知久馬敏幸教授、国立医薬品食品衛生研究所 坂本知昭様に謹んで深謝の意を示します。

本論文内容の誌上発表

本論文の内容は、以下の原著論文誌上で発表した

Sasakura, D., Nakayama, K., Sakamoto, T., Chikuma, T. (2015). Strategic development of a multivariate calibration model for the uniformity testing of tablets by transmission NIR analysis. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 70(5), 289-295.

Sasakura, D., Nakayama, T., Chikuma, T. (2015). Application of the quantitative detection of a change in concentration of magnesium stearate in a feeder tube of tableting manufacture by real-time near-infrared spectroscopy. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 70(10), 636-639.

参考文献

- Abney, W. D. W., & Festing, M. G. (1891). Colour Photometry. Part III. *Proceedings of the Royal Society of London*, 50(302-307), 369-372.
- Aggarwal, I. D., & Lu, G. (Eds.). (2013). *Fluoride Glass Fiber Optics*. Washington DC: Academic press.
- Amigo, J. M., & Ravn, C. (2009). Direct quantification and distribution assessment of major and minor components in pharmaceutical tablets by NIR-chemical imaging. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 37(2), 76-82.
- Blanco, M. A., Coello, J., Iturriaga, H., MasPOCH, S., & Pou, N. (2000). Development and validation of a near infrared method for the analytical control of a pharmaceutical preparation in three steps of the manufacturing process. *Journal of Analytical Chemistry*, 368(5), 534-539.
- Blanco, M., Coello, J., Eustaquio, A., Iturriaga, H., & MasPOCH, S. (1999). Development and validation of methods for the determination of miokamycin in various pharmaceutical preparations by use of near infrared reflectance spectroscopy. *Analyst*, 124(7), 1089-1092.

- Blanco, M., Coello, J., Iturriaga, H., MasPOCH, S., & De La Pezuela, C. (1997). Effect of data preprocessing methods in near-infrared diffuse reflectance spectroscopy for the determination of the active compound in a pharmaceutical preparation. *Applied Spectroscopy*, 51(2), 240-246.
- Bolhuis, G. K., SmalIenbroek, A. J., & Lerk, C. F. (1981). Interaction of tablet disintegrants and magnesium stearate during mixing I: Effect on tablet disintegration. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 70(12), 1328-1330.
- Broad, N. W., Jee, R. D., Moffat, A. C., & Smith, M. R. (2001). Application of transmission near-infrared spectroscopy to uniformity of content testing of intact steroid tablets. *Analyst*, 126(12), 2207-2211.
- Buchanan, B. R., Baxter, M. A., Chen, T. S., Qin, X. Z., & Robinson, P. A. (1996). Use of near-infrared spectroscopy to evaluate an active in a film coated tablet. *Pharmaceutical Research*, 13(4), 616-621.
- Burggraeve, A., Monteyne, T., Vervaet, C., Remon, J. P., & De Beer, T. (2013). Process analytical tools for monitoring, understanding, and control of pharmaceutical fluidized bed granulation: A review. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 83(1), 2-15.

Callis, J. B., Illman, D. L., & Kowalski, B. R. (1987). Process analytical chemistry. *Analytical Chemistry*, 59(9), 624A-637A.

De Beer, T. R. M., Verduyck, P., Burggraeve, A., Quinten, T., Ouyang, J., Zhang, X., & Baeyens, W. R. G. (2009). In - line and real - time process monitoring of a freeze drying process using Raman and NIR spectroscopy as complementary process analytical technology (PAT) tools. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 98(9), 3430-3446.

El Hagrasy, A. S., Chang, S. Y., & Kiang, S. (2006). Evaluation of risk and benefit in the implementation of near-infrared spectroscopy for monitoring of lubricant mixing. *Pharmaceutical Development and Technology*, 11(3), 303-312.

Gottfries, J., Depui, H., Fransson, M., Jongeneelen, M., Josefson, M., Langkilde, F. W., & Witte, D. T. (1996). Vibrational spectrometry for the assessment of active substance in metoprolol tablets: a comparison between transmission and diffuse reflectance near-infrared spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 14(11), 1495-1503.

Green, R. L., Mowery, M. D., Good, J. A., Higgins, J. P., Arrivo, S. M., McColough, K., & Reed, R. A. (2005). Comparison of near-infrared and laser-induced breakdown spectroscopy for determination of magnesium stearate in pharmaceutical powders and solid dosage forms. *Applied Spectroscopy*, 59(3), 340-347.

Jee, R., Moffatt, A., & Trafford, A. (1998). Quantification of paracetamol in intact tablets using near-infrared transmittance spectroscopy. *Analyst*, 123(11), 2303-2306.

Juran, J. M. (1992). *Juran on Quality by Design: The New Steps for Planning Quality into Goods and Services*. United States of America: Simon and Schuster.

Kemper, M. S., Magnuson, E. J., Lowry, S. R., McCarthy, W. J., Aksornkoe, N., Watts, D. C., & Shukla, A. J. (2001). Use of FT-NIR transmission spectroscopy for the quantitative analysis of an active ingredient in a translucent pharmaceutical topical gel formulation. *American Association of Pharmaceutical Scientists*, 3(3), 81-85.

Kettaneh, N., Berglund, A., & Wold, S. (2005). PCA and PLS with very large data sets. *Computational Statistics & Data Analysis*, 48(1), 69-85.

Kowalski, B. R. (1980). Chemometrics. *Analytical Chemistry*, 52(5), 112R-122R.

Lawrence, X. Y. (2008). Pharmaceutical quality by design: product and process development, understanding, and control. *Pharmaceutical Research*, 25(4), 781-791.

Lee, M. J., Park, C. R., Kim, A. Y., Kwon, B. S., Bang, K. H., Cho, Y. S., & Choi, G. J. (2010). Dynamic calibration for the in - line NIR monitoring of film thickness of pharmaceutical tablets processed in a fluid - bed coater. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 99(1), 325-335.

Luypaert, J., Massart, D. L., & Vander Heyden, Y. (2007). Near-infrared spectroscopy applications in pharmaceutical analysis. *Talanta*, 72(3), 865-883.

Mehrotra, A., Llusà, M., Faqih, A., Levin, M., & Muzzio, F. J. (2007). Influence of shear intensity and total shear on properties of blends and tablets of lactose and cellulose lubricated with magnesium stearate. *International Journal of Pharmaceutics*, 336(2), 284-291.

Meza, C. P., Santos, M. A., & Romañach, R. J. (2006). Quantitation of drug content in a low dosage formulation by transmission near infrared spectroscopy. *American Association of Pharmaceutical Scientists*, 7(1), E206-E214.

Moes, J. J., Ruijken, M. M., Gout, E., Frijlink, H. W., & Ugwoke, M. I. (2008). Application of process analytical technology in tablet process development using NIR spectroscopy: Blend uniformity, content uniformity and coating thickness measurements. *International Journal of Pharmaceutics*, 357(1), 108-118.

Mollan, M. J., & Çelik, M. (1996). The effects of lubrication on the compaction and post-compaction properties of directly compressible maltodextrins. *International Journal of Pharmaceutics*, 144 (1), 1-9.

Nakagawa, H., Kano, M., Hasebe, S., Suzuki, T., & Wakiyama, N. (2013). Real-time monitoring of lubrication properties of magnesium stearate using NIR spectrometer and thermal effusivity sensor. *International Journal of Pharmaceutics*, 441 (1), 402-413.

Petri, J., Kaunzinger, A., Niemoeller, A., & Karas, M. (2005). Quality control of tablets by Near Infrared (NIR)-Spectroscopy. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 60 (10), 743-746.

Pieters, S., Saeys, W., Van den Kerkhof, T., Goodarzi, M., Hellings, M., De Beer, T., & Vander Heyden, Y. (2013). Robust calibrations on reduced sample sets for API content prediction in tablets: Definition of a cost-effective NIR model development strategy. *Analytica Chimica Acta*, 761, 62-70.

Romanach, R. J., & Santos, M. A. (2003). Analysis & Control Content Uniformity Testing with Near Infrared Spectroscopy. *American Pharmaceutical Review*, 6, 62-67.

Savitzky, A., & Golay, M. J. (1964). Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. *Analytical chemistry*, 36(8), 1627-1639.

Sekulic, S. S., Ward, H. W., Brannegan, D. R., Stanley, E. D., Evans, C. L., Sciavolino, S. T., & Aldridge, P. K. (1996). On-line monitoring of powder blend homogeneity by near-infrared spectroscopy. *Analytical Chemistry*, 68(3), 509-513.

Tok, A. T., Goh, X., Ng, W. K., & Tan, R. B. (2008). Monitoring granulation rate processes using three PAT tools in a pilot-scale fluidized bed. *American Association of Pharmaceutical Scientists*, 9(4), 1083-1091.

Wold, S., & Sjoestrom, M. (1998). Chemometrics and its roots in physical organic chemistry. *Acta Chemica Scandinavica*, 52(5), 517-523.

Workman, J., Koch, M., & Veltkamp, D. (2005). Process analytical chemistry. *Analytical Chemistry*, 77(12), 3789-3806.

相島鐵郎. (1991). 近赤外分光法におけるケモメトリックスの利用. *日本食品工業学会誌*, 38(2), 166-174.

尾崎幸洋, & 池羽田晶文. (2004). 近赤外分光 I. 概論. *分光研究*, 53(1), 43-53.