

FUMI 理論による粉末X線回折の精度推定

明治製菓 北原 進一

1. 序論

1.1 医薬品開発における問題点

近年、医薬品の候補物質として創出される化合物には、分子構造の複雑化及び分子量の増大傾向が認められている。複雑な分子構造は、結晶多形など結晶学的な問題の原因となる他、分子量の増加とともに溶解性の低下の原因ともなり得る。結晶多形などは、原薬の品質保証を困難にさせるだけでなく、原薬及び製剤の製造工程を複雑化させる原因にもなる。また溶解性の低下は、消化管内における薬物の吸収性に直接影響を及ぼす。さらに、これらは原薬や製剤を製造する際のハンドリングに影響を及ぼすこともあるため、製造施設や製造コストなど、開発に直結する問題となり得る。

1.2 難溶性医薬品の開発における、解決策としての非晶質化

難溶性医薬品の経口用製剤開発においては、溶解性及び溶出性の向上が非常に大きな課題となる。結晶性薬物の溶解性向上を図る手段として、噴霧乾燥や凍結乾燥といった方法による非晶質化が有効であるとされており、実際に多くの医薬品の製剤開発に利用されている。

非晶質は、固体状態のうち分子が無秩序に存在している状態であり、結晶と比較してポテンシャルエネルギーが高く不安定な状態にある。その結果として化学的安定性が低下すると同時に溶解性の向上が見込まれる。

製剤開発に非晶質化を採用した場合、非晶質の品質が製剤の溶解性及び溶出性に大きく影響を及ぼすことが考えられる。非晶質の品質を左右する因子として、非晶質調製時に残留する結晶成分や、保存時における非晶質

から結晶への状態変化などが考えられる。これらの適正な管理が、製剤の品質を確保する上で重要な要件となる。

1.3 非晶質の評価法

非晶質の物理化学的性質の検討方法として、偏光顕微鏡観察、粉末 X 線回折測定、熱分析、IR スペクトル測定、ラマンスペクトル測定、固体 NMR スペクトル測定などが利用されている。このうち粉末 X 線回折測定は、結晶状態の直接的な評価が可能なことと、測定操作が簡便なことから、品質試験として汎用されている。非晶質の品質を左右する因子について、粉末 X 線回折測定を用いた品質試験によって規定する場合、試料中における結晶成分の有無についての評価が行われる。評価に当たっては、その判定基準を設定するためにも、非晶質試料中の結晶成分の検出限界に関する検討を行う必要がある。しかし、粉末 X 線回折測定の定量性は一般に高くはないといわれており、特に非晶質中に微量に含まれる結晶成分については、結晶由来の回折ピークの有無を、目視によって判定するという定性的な評価にとどめる場合もある。そのため、粉末 X 線回折測定による品質試験法の開発に当たっては、多くのくり返し測定による検討が不可欠となり、多くの時間と労力が必要となっている。

1.4 FUMI 理論

測定結果における誤差の主原因がベースラインノイズである場合、このベースラインノイズを数学的手法を用いてシミュレートすることができれば、測定における分析精度を推定することができる。

FUMI (Function of Mutual Information) 理論では、確率論的視点からこのシミュレーションを行う。その結果、統計学的手法よりも少

ない労力で、より信頼性の高い分析精度を推定することができるかとされている。HPLCなどへ適用した場合、1回の分析結果からFUMI理論を用いて推定した分析精度は、数十回の分析結果から統計学的手法を用いて推定した分析精度に、匹敵する信頼性を持つとされている。

1.5 研究の目的

本研究の主目的を、粉末 X 線回折測定の精度推定に対する、FUMI 理論適用の可否についての検討とした。そのためのステップとして、粉末 X 線回折測定におけるノイズの性質を調べ、FUMI 理論による解析を実施した。

次に医薬品開発における実用を想定し、製剤に見立てた混合試料を用いた検討を実施した。

2. 実験

2.1 試料調製

2.1.1 非晶質試料の調製

試料として、水溶液を凍結乾燥することによって非晶質化できるものを用いることとした。そこで、製剤原料として多用されている α -ラクトース（ナカライテスク；以下、ラクトース）及びオリゴ糖であるD-(+)-ラフィノース（ナカライテスク；以下、ラフィノース）を採用した。

ラクトース及びラフィノースの5%水溶液について凍結乾燥を行い、非晶質試料として使用した。

2.1.2 製剤シミュレーション用試料の調製

2.1.2.1 添加剤混合物調製

経口用製剤における標準処方とされている乳糖-デンプン系処方を採用し、表 2.1.1 に従って調製した。乳糖はDMV製Pharmatose 200M、コーンスターチは日本食品加工製日食コーンスターチ(W)、結晶セルロースは旭化成ケミカルズ製セオラス PH-101、ヒドロキシ

プロピルセルロース（以下、HPC）は日本曹達製 HPC-L をそれぞれ使用した。これらについて、ボルテックスミキサーを用いて10分間混合し、添加剤混合物とした。

表 2.1.1 添加剤混合物の処方

添加剤	混合量	混合比率
乳糖	7.72 g	69.5%
コーンスターチ	2.88 g	25.9%
結晶セルロース	0.40 g	3.6%
HPC	0.10 g	0.9%

2.1.2.2 主薬成分混合

主薬成分を選択するに当たっては、添加剤混合物に由来する回折ピークが現れない角度範囲に、分離度の良い回折ピークを示すことを必要条件とし、ニフェジピン（ナカライテスク）及びプロベネシド（ナカライテスク）を選択した。

混合性を向上させるため、これら1gについて5分間、メノウ乳鉢で粉碎を行った。この粉碎物を、添加剤混合物との重量比が5%、10%及び20%になるように添加し、ボルテックスミキサーを用いて10分間混合した。

2.2 粉末 X 線回折測定

各種検討項目に合わせて、以下の実験条件により粉末 X 線回折測定を行った。

- ・ 装置 リガク RINT2100
- ・ 実験条件 1
 - X 線 : CuK α 1
 - 管電圧 : 40 kV
 - 管電流 : 40 mA
 - スキャンステップ : 0.002°
 - スキャンスピード : 0.4°/min
 - 測定範囲 : 2 θ = 3 - 15°
 - 走査軸 : 2 θ / θ
 - データポイント数 : 6000

・ 実験条件 2

X 線 : CuK α 1
 管電圧 : 40 kV
 管電流 : 40 mA
 スキャンステップ : 0.002°
 スキャンスピード : 0.4°/min
 測定範囲 : 2 θ = 3 - 40°
 走査軸 : 2 θ / θ

ホワイトノイズの大きさは、隣接するデータポイントのノイズに影響されない独立なものである。そのため、装置由来のノイズがホワイトノイズとすると、その確率論的な性質を予測することは容易である。ただしこのような処理を施した場合、式(1)に示した誤差の伝播法則に従って処理後の誤差は増幅される。

$$SD_0^2 = SD_1^2 + SD_2^2 \quad \text{式 (1)}$$

・ 実験条件 3

X 線 : CuK α 1
 管電圧 : 40 kV
 管電流 : 20 mA
 スキャンステップ : 0.02°
 スキャンスピード : 4°/min
 測定範囲 : 2 θ = 3 - 40°
 走査軸 : 2 θ / θ

式(1)において、SD₁ 及び SD₂ は独立した誤差要因に起因する誤差の SD、SD₀ はすべての誤差要因を含んだ誤差の SD である。同一の測定試料を 2 度測定した場合、SD₁ 及び SD₂ はくり返し測定によって得られる装置由来のノイズの SD に、SD₀ は差し引き処理によって抽出されるノイズの SD にそれぞれ相当する。SD₁ と SD₂ は等しいことから、式(2)に従って SD₀ は、SD₁ の $\sqrt{2}$ 倍となる。

2.3 . FUMI 理論による解析

2.3.1 ノイズの抽出

粉末 X 線回折測定によって得られる粉末 X 線回折パターンを、試料に由来するパターンと装置に由来するノイズパターンとの和であると仮定し、装置に由来するノイズを抽出することを考えた。図 2.3.1 にノイズ抽出のプロセスを示した。同一試料について測定した 2 つの回折パターンを相互に差し引きしたとき、残るパターンがホワイトノイズであれば、この処理によって抽出されるノイズパターンが装置由来のノイズパターンの性質を反映していると考えられる。

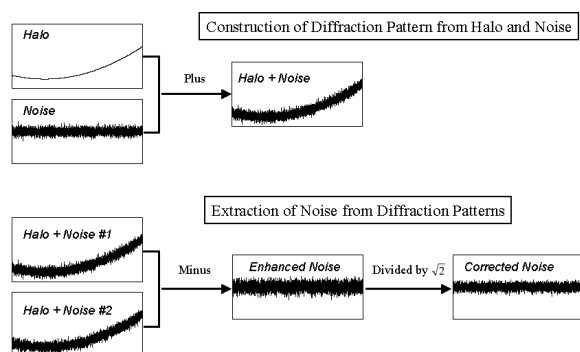


図 2.3.1 ノイズ抽出プロセス

2.3.2 ノイズ解析

自然界における多くのノイズは 1/f ゆらぎと呼ばれる性質を持っている。1/f とは、ノイズを周波数(f)とノイズ強度とのプロットであらわすパワースペクトルからつけられている。ノイズが 1/f ゆらぎの性質を持つ場合、ノイズ強度と周波数は反比例の関係となる。

分析装置などが発生するノイズも 1/f ゆらぎに似た性質を示すことがある。ノイズの性質から分析精度を推定する場合、ノイズの確率論的性質について検討することとなる。しかしながら、1/f ゆらぎを直接解析することは数学的に非常に難しいことに加え、ノイズが 1/f ゆらぎの性質を必ずしも示すとは限らない。FUMI 理論においては、直接 1/f ゆらぎを用いてノイズの確率論的性質を評価することはせずに、1/f⁰ ゆらぎであるホワイトノイズと 1/f² ゆらぎであるマルコフ過程との和として近似し評価を行う。ホワイトノイズが

直前のデータポイントにおける観測値に影響を受けないノイズであるのに対し、マルコフ過程はこの影響を受けるノイズである。横軸に周波数 f 、縦軸にノイズ強度の、それぞれ対数をとったパワースペクトルにおいて、ホワイトノイズは横軸と水平の直線、マルコフ過程は右肩下がりの直線となる。パワースペクトル $P(f)$ は式(2)及び式(3)によって書き表すことができる。

$$P(f) = \frac{m^2}{1-r^2} \times \frac{2\alpha}{\alpha^2 + 4\pi^2 f^2} + w^2 \quad \text{式(2)}$$

$$\alpha = \frac{1-r}{\Delta t} \quad \text{式(3)}$$

これらの式において、 f は周波数、 Δt はデータ取込間隔、 m はマルコフ過程の SD、 r はマルコフ過程の自己相関係数、 w はホワイトノイズの SD をそれぞれ示している。式(2)における第一項がマルコフ過程による寄与、第二項がホワイトノイズによる寄与をそれぞれ示している。パワースペクトルの形が、分析におけるノイズの確率論的解釈の際に有効な評価材料となる。

本研究においては、研究用解析ソフトウェア TOCO (林、松田) を用いてノイズ解析を実施した。パワースペクトル算出に当たって、高速フーリエ変換 (以下、FFT) に用いるデータポイントは 2048 を基本とした。

2.3.3 精度プロファイル

図 2.3.2 に FUMI 理論による検出限界の算出プロセスを示した。分析装置の相対標準偏差 (以下、RSD とする) と濃度との関係をプロットした図を精度プロファイルと呼ぶ。FUMI 理論においては、抽出したノイズ (Corrected Noise) と結晶の回折パターン (Signal) を用い、計算によって精度プロファイルと検出限界相

当の推定図を得ることができる。

RSD を算出するためには、結晶の回折パターンからシグナルパラメータを得る必要がある。ノイズパラメータ (m, r, w) については、実測されるパワースペクトルに、最小二乗法により式(2)で表される理論パワースペクトルを近似させることで求める。これらのパラメータから検量線を作成し、ノイズの RSD と濃度との関係を求める。

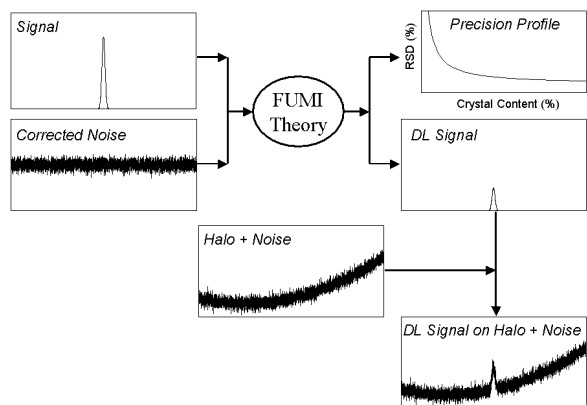


図 2.3.2 検出限界算出プロセス

3. 結果及び考察

3.1 粉末 X 線回折測定への FUMI 理論の適用について

FUMI 理論の粉末 X 線回折測定への適用可能性について検討するために、粉末 X 線回折測定における装置のノイズ特性について検討を行った。

非晶質試料の粉末 X 線回折パターンは、非晶性散乱、バックグラウンド及び装置由来のノイズパターンの和と考えられる。そこで、凍結乾燥により非晶質化したラクトースを用いて測定試料を調製し、同一の測定試料を用いて 2 度くり返し測定を行った。得られた粉末 X 線回折パターンを用いて、差し引き処理をすることにより、ノイズの抽出を試みた。抽出したパターンに対して、TOCO によるノ

イズ解析を行い、その特徴について評価を行った。

図 3.1.1 に非晶質ラクトースの粉末 X 線回折パターンを、図 3.1.2 に差し引き処理により得たパターンを示した。また、図 3.1.3 に差し引きしたパターンのパワースペクトルを示した。差し引き処理によって抽出したノイズはホワイトノイズに似たパターンを示した。

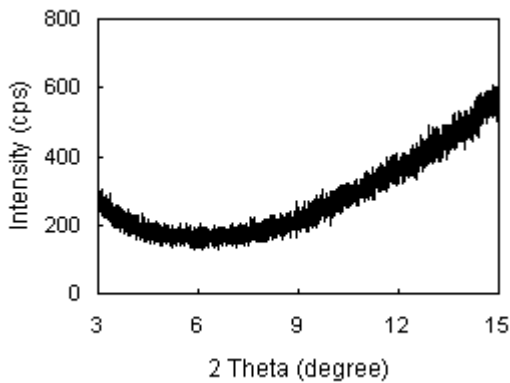


図 3.1.1 非晶質ラクトースの粉末 X 線回折パターン (実験条件 1)

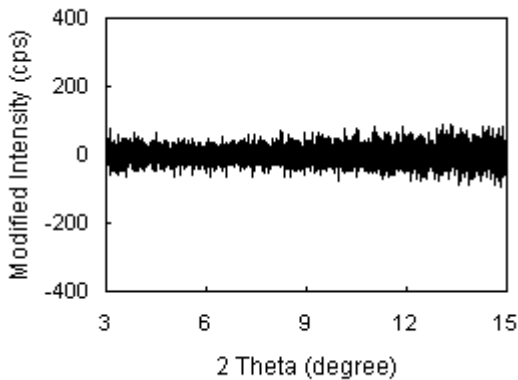


図 3.1.2 差し引き処理によって抽出したパターン

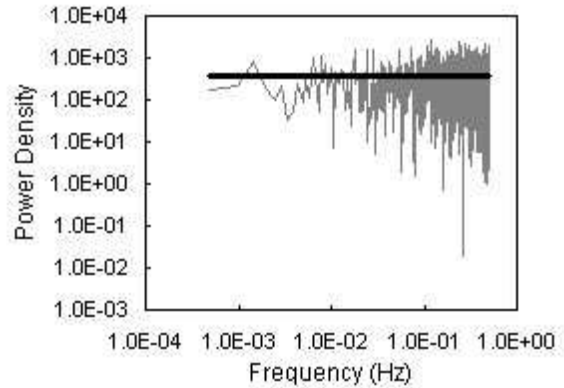


図 3.1.3 パワースペクトル (両対数表示)

FUMI 理論では、ランダムノイズの確率論的性質をパワースペクトルによって評価する。図 3.1.3 において、ジグザクの線は抽出したノイズから得た実際のパワースペクトルを、太い直線は最小二乗法により近似した理論パワースペクトル(式(2))を示している。理論パワースペクトルの近似式において、マルコフ過程の SD である m の寄与は、ホワイトノイズの SD である w の寄与に比べて、無視できるほど小さかった。以上より、差し引き処理によって得られたノイズパターンはホワイトノイズで近似され、粉末 X 線回折測定における装置由来のノイズは、ホワイトノイズで近似できると考えられた。

FUMI 理論では、ノイズパラメータを用いて測定におけるノイズパターンをシミュレートすることにより、ノイズの SD を推定する。粉末 X 線回折測定においてもホワイトノイズで近似できることから、ノイズの SD を推定することは可能であると考えられる。以上の結果から、粉末 X 線回折測定に対する FUMI 理論の適用は可能であると考えられた。

3.2 ノイズ解析における FFT 領域の影響について

有機化合物の場合、結晶に由来する回折ピークの出現範囲は、概ね $2\theta = 40^\circ$ 以下と考えられる。そこで、測定範囲を $2\theta = 3 - 40^\circ$ に設

定し、非晶質ラクトース及び非晶質ラフィノースを用いて測定を行った。同一試料を2度くり返し測定することを1サイクルとして合計3サイクルを行い、1サイクルごとにノイズ抽出を行った。データに対する信頼性向上の理由から、FFT に用いる領域を1024データポイント以上としてノイズ解析を行った。

表 3.2.1 FFT 領域 (実験条件 2)

データポイント数	角度換算
4096	8.192°
2048	4.096°
1024	2.048°

ノイズ解析の結果、FFT 領域の大小及び角度範囲に関わらず、マルコフ過程に関するノイズパラメータである m 及び r はゼロで近似され、ノイズパターンはホワイトノイズで近似できることが示唆された。以下に実験結果のうち、FFT 領域を2048データポイントとしたものを示した。

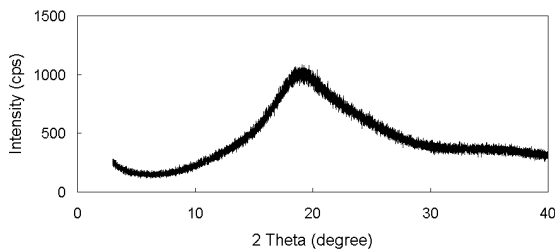


図 3.2.1 非晶質ラクトースの粉末 X 線回折パターン (実験条件 2)

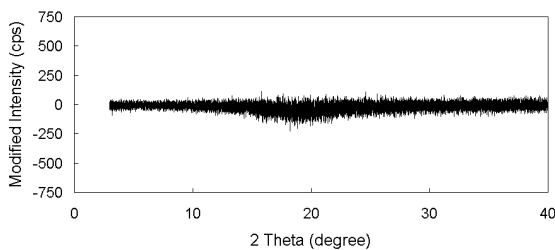


図 3.2.2 差し引き処理後のノイズパターン (試料: 非晶質ラクトース)

表 3.2.2 ノイズ解析結果(ラクトース)

FFT 領域 2θ(°)	w	m	r
3.000 - 7.094	18.2063	0	0
5.048 - 9.142	18.0717	0	0
7.096 - 11.190	20.4200	0	0
9.144 - 13.238	23.5125	0	0
11.192 - 15.286	27.5395	0	0
13.240 - 17.334	33.8542	0	0
15.288 - 19.382	40.4418	0	0
17.336 - 21.430	44.0060	0	0
19.384 - 23.478	41.8574	0	0
21.432 - 25.526	37.0893	0	0
23.480 - 27.574	33.4966	0	0
25.528 - 29.622	30.3374	0	0
27.576 - 31.670	28.1836	0	0
29.624 - 33.718	27.6262	0	0
31.672 - 35.766	27.5968	0	0
33.720 - 37.814	27.0486	0	0
35.768 - 39.862	26.5716	0	0

スキャンステップ : 0.002°

FFT 領域 : 2048 データポイント

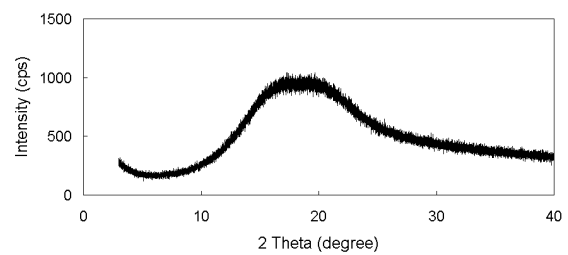


図 3.2.3 非晶質ラフィノースの粉末 X 線回折パターン (実験条件 2)

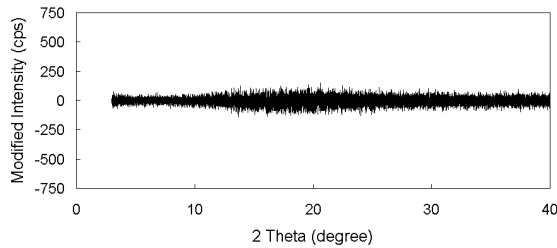


図 3.2.4 差し引き処理後のノイズパターン
(試料：非晶質ラフィノース)

表 3.2.3 ノイズ解析結果 (ラフィノース)

FFT 領域 2θ(°)	w	m	r
3.000 - 7.094	19.5241	0	0
5.048 - 9.142	19.0428	0	0
7.096 - 11.190	21.3742	0	0
9.144 - 13.238	26.6639	0	0
11.192 - 15.286	33.8421	0	0
13.240 - 17.334	39.1681	0	0
15.288 - 19.382	42.7286	0	0
17.336 - 21.430	43.7637	0	0
19.384 - 23.478	41.1592	0	0
21.432 - 25.526	37.3611	0	0
23.480 - 27.574	33.3483	0	0
25.528 - 29.622	30.8179	0	0
27.576 - 31.670	30.7617	0	0
29.624 - 33.718	29.3372	0	0
31.672 - 35.766	27.1920	0	0
33.720 - 37.814	26.6070	0	0
35.768 - 39.862	26.3324	0	0

スキャンステップ：0.002°

FFT 領域：2048 データポイント

FFT 領域の大小に関わらず、ホワイトノイズで近似できることが示されたが、FFT 領域を狭く設定した場合、解析に用いる角度範囲によっては、ホワイトノイズの SD である w の大きさが変化するという現象が認められた。これは、ノイズパターンを抽出するため

に使用したハローパターンにおける回折強度の影響を受けたためと考えられた。

3.3 製剤への応用について

3.3.1 添加剤混合物の粉末 X 線回折パターン

添加剤混合物の構成成分及び添加剤混合物の粉末 X 線回折パターンを、図 3.3.1 から図 3.3.5 に示した。添加剤混合物の粉末 X 線回折パターンは、混合比率 69.5% を占める乳糖の粉末 X 線回折パターンとほぼ同じものとなっていた。各回折ピークは添加剤混合物の構成成分に由来するものであり、混合による新たな回折ピークの出現は認められなかった。

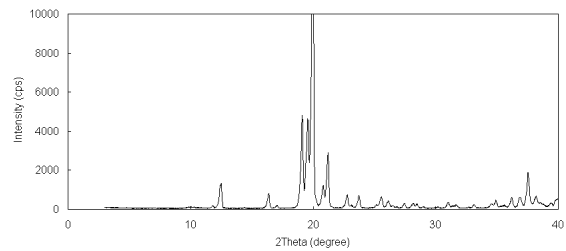


図 3.3.1 乳糖の粉末 X 線回折パターン
(実験条件 3)

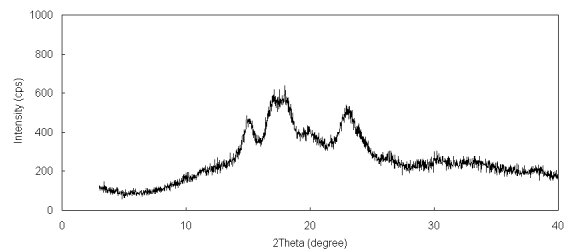


図 3.3.2 コーンスターチの粉末 X 線回折パターン (実験条件 3)

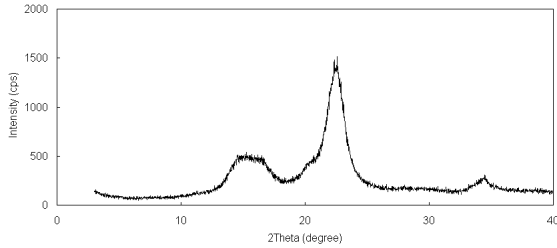


図 3.3.3 結晶セルロースの粉末X線回折パターン (実験条件 3)

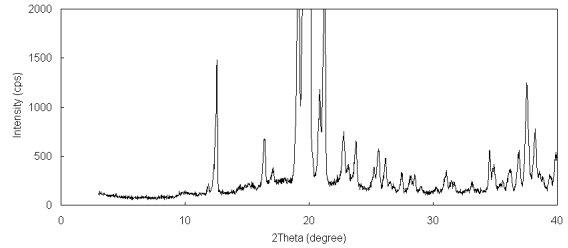


図 3.3.6 添加剤混合物の粉末X線回折パターン (実験条件 3 : 拡大)

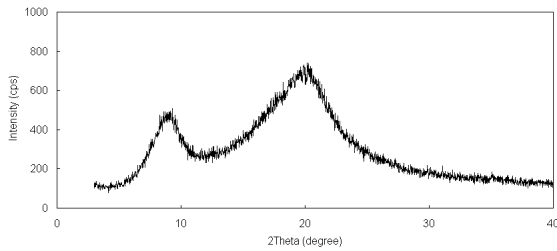


図 3.3.4 HPCの粉末X線回折パターン (実験条件 3)

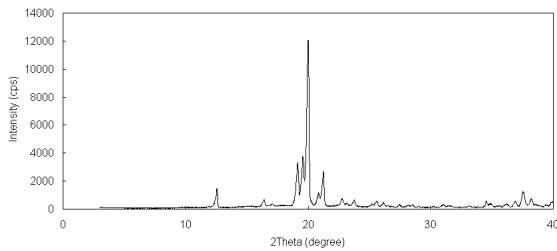


図 3.3.5 添加剤混合物の粉末X線回折パターン (実験条件 3)

添加剤混合物について $2\theta = 3 \sim 15^\circ$ の範囲で測定 (実験条件 1) した粉末 X 線回折パターンを図 3.3.7 に、差し引き処理によって抽出されたパターンを図 3.3.8 にそれぞれ示した。

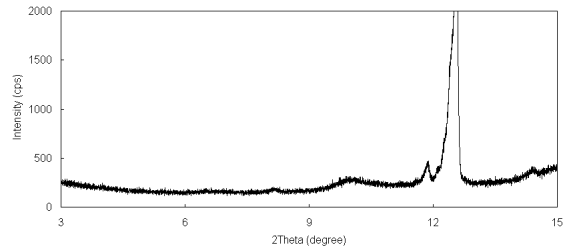


図 3.3.7 添加剤混合物の粉末X線回折パターン (実験条件 1)

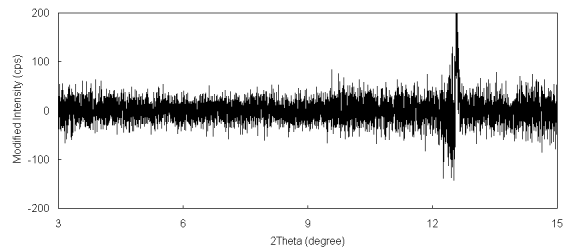


図 3.3.8 差し引き処理によって抽出されたパターン

3.3.2 ノイズ解析

添加剤混合物の粉末 X 線回折パターンの拡大図を図 3.3.6 に示した。 $2\theta = 3 \sim 10^\circ$ の範囲に回折ピークを示さないことが確認された。3.1 節の結果から、回折パターンがハローパターンとなる場合には、差し引き処理によって測定に由来するノイズを抽出できると考えられている。そこで、 $2\theta = 3 \sim 10^\circ$ の範囲に対して、ハローパターンと同様な扱いができるかどうかを確認する事とした。

差し引き処理によって抽出されたパターンのうち、添加剤混合物由来の回折ピークが認められなかった角度範囲のデータを用いて、FFT を 2048 ポイントとしてノイズ解析を行った。ノイズ解析によって得られたパワースペクトルを図 3.3.9 に示した。理論パワースペクトルは横軸と平行な直線となって

おり、ホワイトノイズで近似できることが示唆された。これより、添加剤混合物の粉末 X 線回折パターンのうち、回折ピークを示さない角度範囲においては、ハローパターンの場合と同様に、差し引き処理によってノイズを抽出できると考えられた。

なお、基になる粉末 X 線回折パターンにおいて、添加剤混合物に由来する回折ピークを認める角度範囲においては、差し引き処理によってノイズ以外の成分が抽出されており、ノイズ解析には適さないと考えられた。

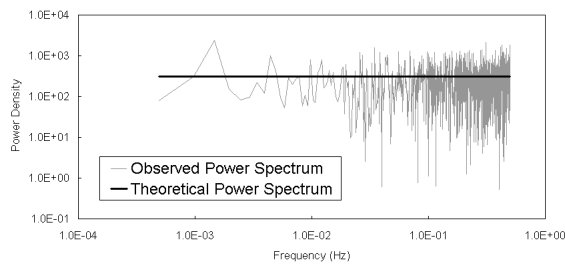


図 3.3.9 添加剤混合物のパワースペクトル (両対数表示)

3.3.3 主薬成分の選択

添加剤混合物の粉末 X 線回折パターンにおいて、 $2\theta = 3 \sim 10^\circ$ の範囲に回折ピークが認められなかった。従って主薬成分を選択する場合、この角度範囲に分離度の良い回折ピークを示すものを選択する必要があると考えた。選択に当たっては 20 種以上の薬物に対して粉末 X 線回折測定を実施し、前述の条件を満足するニフェジピン及びプロベネシドを採用する事とした。図 3.3.10 にニフェジピンの、図 3.3.11 にプロベネシドの粉末 X 線回折パターンを示した。いずれも $2\theta = 3 \sim 10^\circ$ に分離度のよい回折ピークを示しており、シミュレーションにおける主薬成分として適していると考えられた。

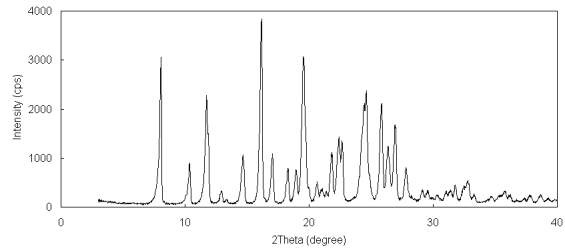


図 3.3.10 ニフェジピンの粉末 X 線回折パターン (実験条件 3)

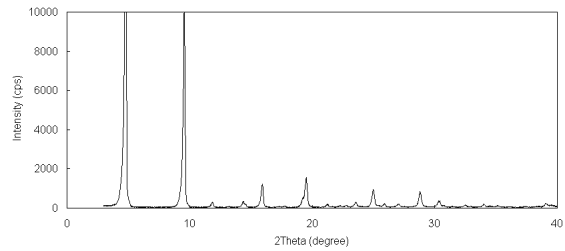


図 3.3.11 プロベネシドの粉末 X 線回折パターン (実験条件 3)

3.3.4 製剤のシミュレーション

3.3.4.1 ニフェジピン

主薬成分にニフェジピンを用い、重量比が 5%、10% 及び 20% になるように添加剤混合物と混合した。実験条件 1 により、各種混合物について 6 回くり返して粉末 X 線回折測定を行った。図 3.3.12 に 20% 混合物の粉末 X 線回折パターンを示した。 $2\theta = 8.1^\circ$ 付近の回折ピークをシグナル解析の対象ピークとする事とした。

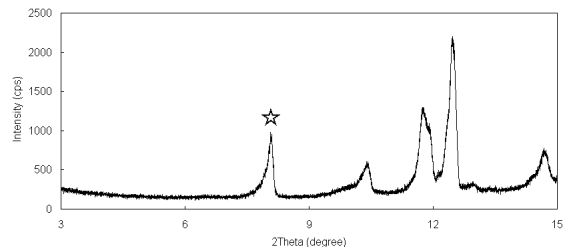


図 3.3.12 ニフェジピン 20% 混合物の粉末 X 線回折パターン (実験条件 1)

図 3.3.13 にシグナル解析により得た精度プロファイルを示した。くり返し測定から得た RSD と FUMI 理論により算出された RSD は近い値を示した。

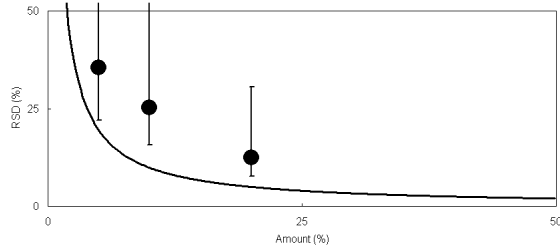


図 3.3.13 精度プロファイル (ニフェジピン)
●は実測した RSD(%), 実線は FUMI 理論により算出された RSD(%)

3.3.4.2 プロベネシド

主薬成分にプロベネシドを用い、重量比が 5%、10% 及び 20% になるように添加剤混合物と混合した。実験条件 1 により、各種混合物について 6 回くり返して粉末 X 線回折測定を行った。図 3.3.14 に 20% 混合物の粉末 X 線回折パターンを示した。 $2\theta = 9.6^\circ$ 付近の回折ピークをシグナル解析の対象ピークとする事とした。

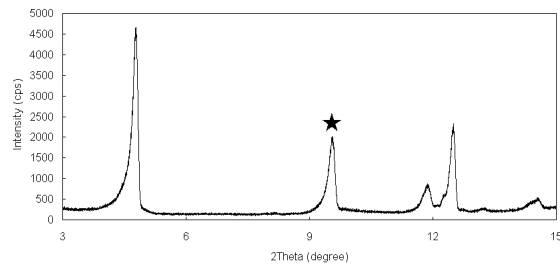


図 3.3.14 プロベネシド 20% 混合物の粉末 X 線回折パターン (実験条件 1)

図 3.3.15 にシグナル解析により得た精度プロファイルを示した。くり返し測定から得た RSD と FUMI 理論により算出された RSD は近い値を示した。

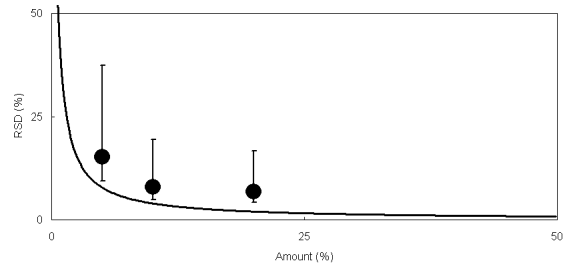


図 3.3.15 精度プロファイル (プロベネシド)
●は実測した RSD(%), 実線は FUMI 理論により算出された RSD(%)

4. 結論

ノイズ抽出プロセスを採用することによって、粉末 X 線回折測定の精度推定に FUMI 理論を適用できると考えられた。

粉末 X 線回折測定におけるノイズパターンは、試料や実験条件によらず、ホワイトノイズで近似することができると考えられた。本検討結果を実用するにあたっては、推定される精度の信頼性向上のため、ノイズ解析を行う範囲及びデータポイント数について、詳細な検討を実施すべきであると考えられた。

製剤のような多成分の混合系においても、添加剤混合物の粉末 X 線回折パターンに、回折ピークを示さない角度範囲が存在する場合、FUMI 理論による精度推定が可能であると考えられた。