

《様式B》

研究テーマ	「トレーサビリティを備えた医薬品製剤の設計」		
研究責任者	所属機関名	愛知学院大学 薬学部	製剤学講座
	官職又は役職	講師	
	氏名	安永峻也	メールアドレス：acauau28@dpc.agu.ac.jp

(令和4年度募集) 第35回 助成研究 完了報告書

上記様式記載後

1. 実施内容および成果ならびに今後予想される効果の概要 (1, 000字程度)

偽造品は世界貿易額の約 3% を占めると言われており、年々増加傾向にある。医薬品では、マラリア治療薬の偽造により年間 12 万人が命を失っていると推定されており、国内でもパッケージの中身を入れ替えた偽造品が調剤薬局で見つかった事例があるなど対策が急務である。既存の偽造品対策や流通管理システムではホログラムや RFID タグ、バーコードなどのラベルをパッケージに貼付する方式が主流であるため、製品を直接判別する仕組みが求められている。そこで、本研究では、表面増強ラマン散乱 (SERS) 活性を有するインク型のナノタグを医薬品錠剤へ直接搭載することを試みた。ナノタグはバーコードリーダーのようにレーザーを照射するだけで、ナノタグに含有されているリポーター分子特有の SERS スペクトルを瞬時に読み取り、インクの位置情報と組み合わせることで個々の錠剤の識別を可能にする (図 1)。具体的には、一般的な医薬品コーティング液とナノタグを混合することで、既存の錠剤コーティングプロセスにナノタグを適用し、コーティング液中のナノタグ濃度 (v/v%) やコーティング時間がコーティング膜中の SERS 活性の分布に及ぼす影響について、ラマン顕微鏡を用いて評価した。また、ナノタグのステルス性について評価すべく、ナノタグの有無による色調の変化を色差計にて評価した。その結果、既存の錠剤コーティング機を用いたコーティングにより、SERS 活性を維持した状態でナノ

タグを錠剤にタグ付けできることが示され、ナノタグの濃度依存的に SERS 活性が増加していることが確認された。また、ナノタグを搭載した錠剤は、ナノタグ未搭載の錠剤との色差が 2 以下であり、肉眼での観察が困難で偽造者に見つかりにくくリバースエンジニアリングされにくいことが示唆された。さらに、錠剤内部の水溶性成分の存在により、SERS 活性が低下することが示唆され、ナノタグの安定性に関する重要な知見を得た。上記の結果は、ナノタグの汎用性の高さを示す貴重な基礎的情報であり、今後は、本知見を基に、様々な製剤プロセスへの応用を展開する予定である。

2. 実施内容および成果の説明 (A 4 で、5 ページ以内)

[1] 目的

本研究では、ナノタグ技術の医薬錠剤への応用を目指すべく、錠剤コーティングプロセスにおけるコーティング基剤とナノタグの混合を試み、ナノタグ搭載錠剤のラマン活性とナノタグのステルス性について検証した。

[2] 方法

1) ナノタグ (NB) の調製

クエン酸で表面修飾された金ナノ粒子の水性コロイド分散液を調製し、リポーター分子として 200 μ M アデニン塩酸塩の存在下で凝集させ、金ナノ粒子鎖状集合体の分散液 (NB) を得た。

2) NB 搭載コーティング錠の調製

99.5 wt% の乳糖-G (フロイント産業株式会社) と 0.5 wt% のステアリン酸カルシウムから成るモデルプラセボ錠 (R 錠, 質量約 200 mg, 直径 8 mm) を調製した。250 g のプラセボ錠に対して、**Table 1** に示す処方にて錠剤コーティング機 HC-LABO 20 (フロイント産業株式会社) を用いて錠剤コーティングを実施した。コーティングの操作条件は標準的な条件 (給気温度 60-70°C, スプレーエア圧力

0.1 MPa, 風量 0.4 m³/min) を採用した。スプレー直前に NB とコーティング液を任意の割合でスターラーにて混和し、コーティング液中の NB 濃度 (v/v%) の違いが SERS 活性に及ぼす影響を調査した。さらに、コーティング中に 5 分毎に 5 錠を抜き取り、経時的な NB の SERS 活性の強度変化を調査した。

Table 1 Recipe of coating liquid

	NB free	3.13% NB	6.25% NB	12.5% NB	25% NB
HPMC (g)	2	2	2	2	2
PEG 6000 (g)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
TiO ₂ (g)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
D.W. (g)	22.55	22.55	22.55	22.55	22.55
NB (mL)	-	0.9	1.8	3.6	3.6*

* 自然沈降により 2 倍に濃縮した NB を用いた。

3) ラマン活性の評価

コーティング錠表面のラマンイメージをラマン顕微鏡 (XploRA PLUS, HORIBA) にて取得した。レーザー出力を 77 mW, レーザー波長を 785 nm とし、高速でイメージング可能な SWIFT モードにて 0.1 秒間の照射時間で 100~1800 cm⁻¹ までのスペクトルを取得した。10 倍の対物レンズを使用し、500 μm × 500 μm の面積におけるリポーター分子の 735 cm⁻¹ のピーク高さをマッピングし、ステップサイズは 5 μm とした。ピーク高さは 710 cm⁻¹ と 760 cm⁻¹ のスペクトルの交点を直線で結ぶことでベースラインを算出し、735 cm⁻¹ におけるベースラインとピークトップの差を Labspec 6 ソフトウェアで計算した。

4) NB のステルス性評価

コーティング錠の色の違いをハンディ型分光色差計 (NF555, 日本電色工業株式会社) にて評価した。色差 ΔE_{ab}^* は下記の式 (Eq.1) より算出した。色差は、L*, a*, b* の直交座標計における 2 点間の距離で表される。

$$\Delta E_{ab}^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (1)$$

ここで、L* は明度を表し、a* と b* は RGB に相当し、a* が正の値である場合は赤

色に近づき、負の場合は緑色に近くなる。 b^* が正の場合は、黄色に近づき、負の場合は青色に近づく。 a^* と b^* は0に近づくにつれ彩度が低くなり、無彩色となることを意味する。

[3] 結果と考察

1) ナノタグ搭載錠剤のラマン活性評価

Fig.1a にはNB濃度の異なるコーティング錠におけるラマン散乱強度 (735 cm^{-1} のピーク高さ) の分布を, **Fig.1b** にはラマンイメージ中の1点 (緑線の交点) におけるスペクトルを示す。全ての濃度において, 735 cm^{-1} 付近にNBに含まれるリポーター分子であるアデニンのピークが観察され、NBのSERS活性がコーティング中の 70°C の加熱下で維持され、NBが錠剤へ搭載可能であることが示された。**Fig.1c** は、コーティング中のNB濃度と平均ピーク高さの関係を図示したもので、NBの濃度依存的にNBのSERS活性が増大することが確認された。

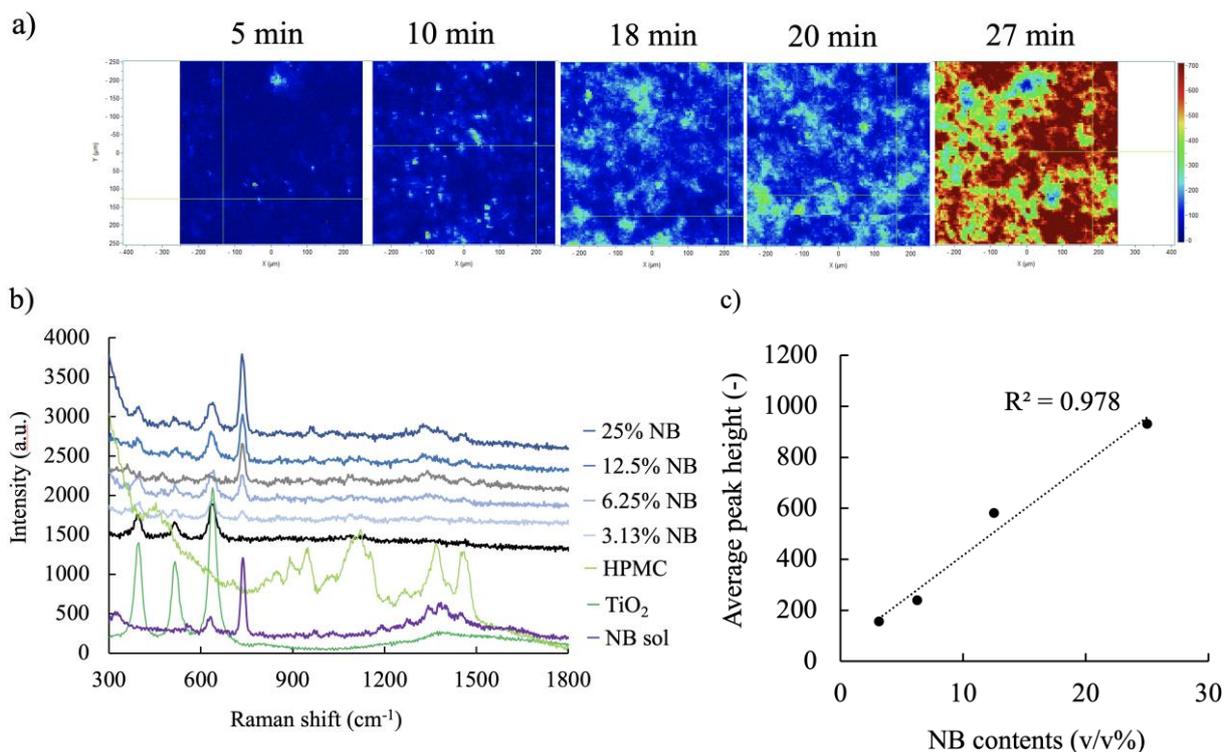


Fig.1 SERS activity of NB on the surface of NB-coated tablets. (a) Raman imaging (77 mW, step size = $5\text{ }\mu\text{m}$, irradiation time = 0.1s), (b) Raman spectra at point green lines are crossing in the Raman image, (c) average peak height vs NB concentration plot.

Fig.2 は、NB 濃度 12.5% のコーティング中に経時的にサンプリングした錠剤表面のラマンイメージとラマンスペクトルの変化を示したものである。**Fig.2c** に、コーティング時間とピーク高さの関係をプロットしているが、**Fig.1c** の結果と異なり、NB の SERS 強度が 20 分経過以降急激に上昇し、一次関数とはならなかった。これは、コーティング開始時に、錠剤に含まれる乳糖が錠剤表面に付着したコーティングスプレー液滴中に溶解し、NB の SERS 活性を低下させたためと考えられる。乳糖溶液もしくは HPMC 溶液に NB を混合して SERS 活性を比較した場合、乳糖において SERS 強度が低下することを確認した。したがって、コーティングが進行するにつれて、HPMC のコーティング被膜が形成されることで、乳糖の溶出が徐々に抑制され、NB の SERS 活性が急激に増大したと考えられる。コーティングの進行に伴い、NB の SERS 活性が増大することから、コーティングの進行をリアルタイムにモニタリングできる可能性が示唆された。

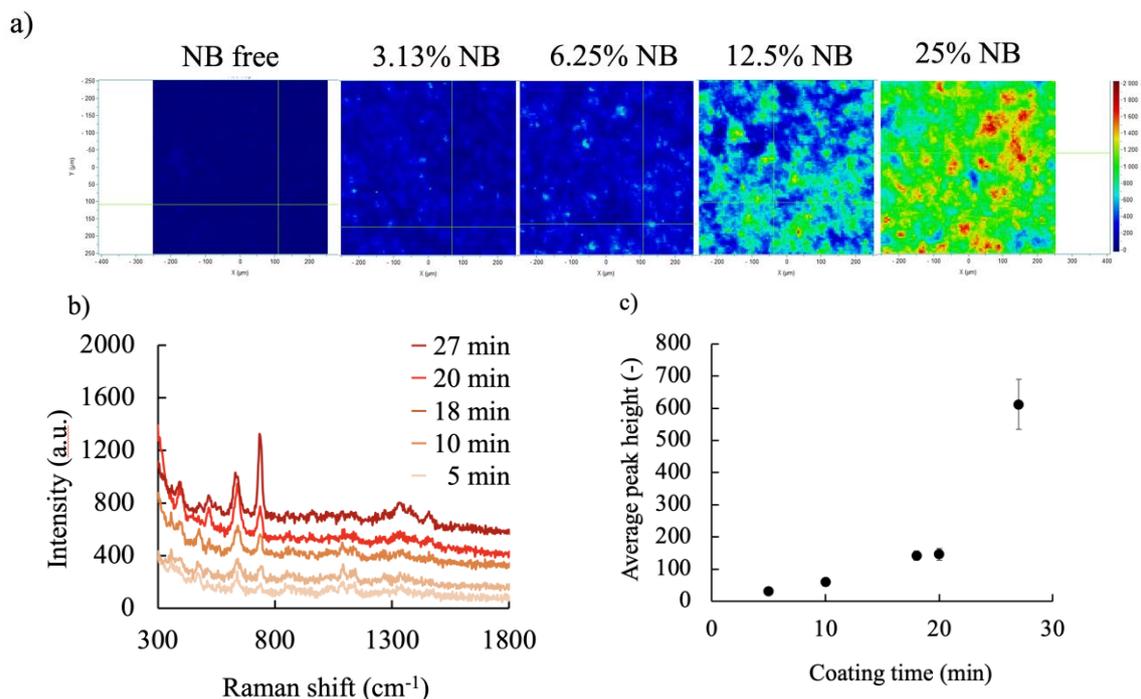


Fig.2 Change in SERS activity of NB on the surface of NB-coated tablets over time during the coating process. (a) Raman imaging (77mW, step size = 5 μm , irradiation time = 0.1s), (b) Raman spectra at point green lines are crossing in the Raman image, (c) average peak height vs coating time plot.

2) ナノタグ搭載錠剤のステルス性評価

Table 2 に、NB 非搭載コーティング錠 (NB free) に対する素錠 (Uncoated tablet)、NB 濃度の異なる NB 搭載コーティング錠の色差 (ΔE^*_{ab}) をまとめた。NB の濃度依存的に明度 (L) が減少したものの、NB 濃度 12.5% 以下の錠剤では、肉眼で識別困難とされる色差 2 以下を示し、NB のステルス性が示された。

Table 2 Color difference between NB coating tablet and NB free coating tablet

	uncoated tablet	NB free	3.13% NB	6.25% NB	12.5% NB	25% NB
L	92.03±0.89	94.01±0.01	94.51±0.1	93.77±0.09	93.35±0.31	90.75±0.99
a	-0.41±0.72	-0.32±0.2	-0.52±0.03	-0.46±0.14	-0.28±0.08	0.12±0.47
b	3.14±0.57	3.69±0.23	2.58±0.06	2.67±0.16	2.37±0.21	1.89±0.51
ΔE^*_{ab}	2.05	-	1.23	1.06	1.47	3.74

[4] 結論

本研究より、既存の錠剤コーティング設備を利用して SERS 活性を維持した状態で NB を錠剤にタグ付けできることが示された。また、NB の濃度依存的に SERS 活性が増加していることが確認され、コーティングプロセスのリアルタイムモニタリングへの応用が期待される結果を得た。さらに、本研究で製造された NB 搭載錠剤と NB 非搭載錠剤の色差を比較することで、NB 搭載錠剤が肉眼で判別不能なステルス性を示すことも明らかにした。本研究成果は以下の論文として国際的に発表された。今後、実用性試験を重ねるとともに、安全性評価を実施することで、本技術の実用化を目指したい。

掲載論文: Toshiya Yasunaga, Takao Fukuoka, Akinobu Yamaguchi, Noriko Ogawa, Hiromitsu Yamamoto, Application of stealth nanobeacon for traceability assurance in pharmaceutical tablets via surface-enhanced Raman scattering during the tablet coating process, *International Journal of Pharmaceutics*, 666(5), (2024) 124810.