
 解説

DSC 等の熱分析による医薬品の安定性評価

吉岡澄江

(受取日：1998年8月28日，受理日：1998年9月14日)

Stability Evaluation of Pharmaceuticals by Thermal Analysis

Sumie Yoshioka

(Received August 28, 1998, Accepted September 14, 1998)

Usefulness of thermal analysis in evaluating the storage stability of pharmaceuticals is discussed. Information on the molecular mobility of pharmaceuticals that is closely related to the stability of pharmaceuticals can be obtained from enthalpy relaxation and mechanical relaxation determined by differential scanning calorimetry, thermomechanical analysis, and dynamic mechanical analysis.

1. はじめに

医薬品の品質が、定められた有効期間にわたって安定に維持されることは、医薬品の有効性と安全性を保証するための必要条件である。熱分析は、医薬品が引き起こす化学的变化および物理的变化を簡便にかつ感度よく検出できるので、従来から医薬品の安定性評価に利用されてきた。特に、溶解度や溶出速度を増大させるために有効成分や添加剤が非晶質状態になるように設計された製剤については、温度がガラス転移温度 (T_g) 以上に上昇すると著しく不安定になり、結晶化などの品質変化が容易に起こることから、熱分析によって測定される T_g は、非晶質の安定性を密接に反映する指標として安定性評価において非常に有用である。

一方、 T_g 以下の温度領域においても、非晶質製剤は品質変化に繋がる状態変化を起こしており、速度は遅いながら非晶質の結晶化が観察されることもある。¹⁾ 医薬品は使用されるまでに室温付近の条件、あるいは冷蔵庫に保存されるのが一般的であり、 T_g 以下の品質変化が実際の保存条件

における安定性を評価するうえで重要な意味をもつ。 T_g 以下の医薬品の遅い品質変化を評価するためには、しばしばより高い温度条件でのより速い品質変化を観察する、いわゆる加速試験を行って、その結果を外挿して知りたい温度での変化を推定することが行われる。しかし、 T_g 前後の品質変化の温度依存性は、通常、Arrhenius の関係を示さないため、加速条件での変化の速度を外挿する場合には注意を要する。最近、 T_g 以下の遅い変化を、製剤中の分子の運動を測定することによって推定しようとする試みがなされているが、熱分析はこのような遅い変化の観察においても有力な手段となる。

本稿では、医薬品が T_g 以下の温度において示す状態変化 (緩和現象) を、示差走査熱量分析 (DSC)、熱機械分析 (TMC) あるいは動的熱機械分析 (DMA) によって観察することによって医薬品の室温付近での安定性を評価しようとするアプローチについて、Zografu グループ^{2,3)} および Duddu グループ^{4,5)} による一連の研究を紹介しながら、その可能性を考察する。さらに、分子運動性に基いて医薬品の安定性を評価する方法に関して、NMR の緩和測定を用

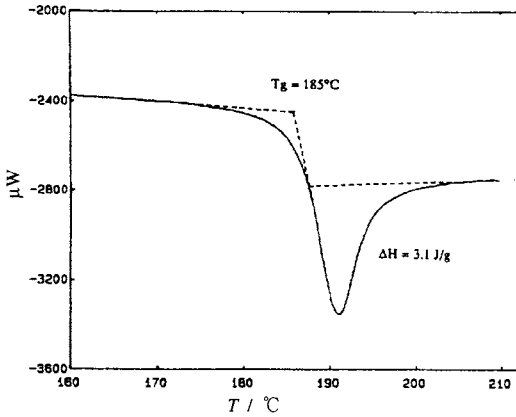


Fig.1 Enthalpy relaxation endotherm of glassy poly(vinylpyrrolidone).

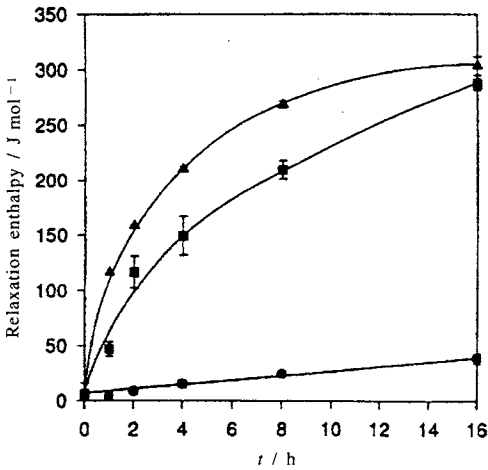


Fig.2 Increase in relaxation enthalpy with storage time for PVP. ● T_g -47; ■ T_g -32; ▲ T_g -16.

いる方法を著者らのデータ^{6,7)}をもとに、熱分析法と比較して考察する。

2. エンタルピー緩和時間による安定性評価

水溶性高分子であるポリビニルピロリドン (PVP) は医薬品添加剤としてよく用いられるが、ガラス状態のPVPはFig.1のように T_g においてエンタルピー緩和による吸熱ピークを示す。²⁾ ガラス状態のPVPを T_g より低い温度に保存すると、非平衡状態にあるガラス中の分子の運動性に依存した速度で、より安定な状態へ向かってエンタルピーの減少がみられる。したがって、ガラスを保存することによってFig.1の緩和量は時間の経過とともに増大する。エンタル

ピー緩和の緩和量をDSCによって経時的に測定することによって、ガラス状態のPVP中でゆっくりと進行しているエンタルピー緩和現象を観察することができる。すなわち、試料をDSCにセットし、 T_g より低い温度に一定期間保存した後に、いったん温度を下げてから昇温してエンタルピー緩和による吸熱量を測定する。ここで、加熱や冷却の速度が遅すぎると操作中に緩和が起こってしまうため、速度を最適化することが必要である。Fig.2に示すように、PVPガラスの緩和量は保存時間とともにほぼ指数関数的に増大した。その増大の速度は保存温度に大きく依存するが、 T_g より47℃も低い温度でも16時間の観測時間内で有意に増大することが認められた。このように T_g よりもはるかに低い温度においても、分子はかなりの運動性をもっており、エンタルピー緩和を引き起こしていることがわかる。また、インドメタシンやショ糖のような低分子量化合物のガラスでも、PVPと同様の時間スケールでエンタルピー緩和を起こすことが観察されている。

エンタルピー緩和をもたらす分子の動きが起こる平均の時間 (平均緩和時間定数, τ) は (1) 式にしたがってエンタルピー緩和のデータから計算することができる。

$$\Phi_t = \exp(-t/\tau)^\beta = 1 - (\Delta H_t/\Delta H_\infty) \quad (1)$$

ここで Φ_t はある温度に保存されたガラスがある時間 t までに緩和する割合であり、 ΔH_t は時間 t までに回復したエンタルピー緩和量の実測値、 ΔH_∞ は無限大の時間までに回復するエンタルピー緩和量である。さらに、 β は緩和時間の分布を表すパラメータである。

Fig.3は、PVP、インドメタシンおよびショ糖の各ガラスを、(T_g -47℃) から (T_g -16℃) の温度範囲に保存した後に観察したエンタルピー緩和のデータから (1) 式にしたがって求めた τ を示す。 τ は温度が上昇すると減少し、いずれのガラスも T_g では1~10 hに外挿される。一般的に医薬品は数年にわたる有効期間が要求されるが、これらのガラスの品質変化に繋がるような分子の動きが数年にわたって有意に起こらないようにするには、少なくとも T_g より50℃は低い温度に保存する必要があることがFig.3からわかる。室温25℃に保存した場合には、 T_g との差が、PVPでは160℃、ショ糖では52℃となり、これらのガラスについては数年の有効期間が推定される。しかし、インドメタシンでは T_g との差が22℃にすぎず、約3日間でかなりの変化を引き起こすような分子の運動が存在することになる。ここで測定されたようなエンタルピー緩和時間が製剤としての有効期間にどのような関係を持つかについては明らかではないが、それが製剤中で進行しているなんらかの状態の変化を反映することは確かである。したがって、エンタルピー緩和時間を測定することによって、製剤の有効期間を大まかに予

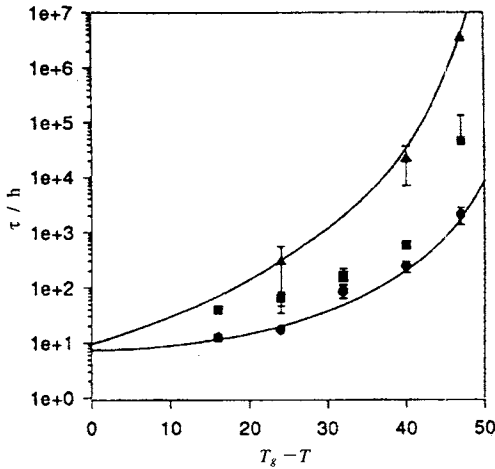


Fig.3 Increase in relaxation time constant with scaled temperature $T_g - T$. ▲sucrose; ■indomethacin; ●PVP.

測することは可能であると考えられる。

これらのPVP、インドメタシン、およびシヨ糖の各ガラスについて、 τ の対数を T_g/T に対してプロットすると、非線形のAngellプロット⁸⁾が得られ、エンタルピー緩和を引き起こす分子の動きの温度依存性は単純な指数関数では表せないことが分かった。Angellプロットの勾配の平均値から求めた見かけの活性化エネルギー (PVP, 300 kJ mol^{-1} ; インドメタシン, 180 kJ mol^{-1} ; シヨ糖, 360 kJ mol^{-1}) から、エンタルピー緩和が協同的な運動によっていることが示唆されている。

3. 機械的緩和時間による安定性評価

PVPガラスが T_g より低い温度に保存されたときに示す緩和現象は、TMAによっても観察されている。²⁾ PVPフィルムに一定の荷重を加えたときの変形を経時的に測定すると、Fig.4に示されるように、前節のエンタルピー緩和と同様に、おおよそ指数関数に従う緩和がみられた。この緩和はエンタルピー緩和に比較してかなり速く、 T_g より99℃も低い温度においても、30 hの観察によって有意な緩和がみとめられた。このように異なった手段を用いると時間スケールの異なった緩和が観察されるのは、異なった様式の分子運動によってもたらされる異なったメカニズムの緩和現象を観察しているためと考えられる。したがって、医薬品の安定性評価に結び付けるためには、有効期間を決める品質変化がどの様式の分子運動性に支配されているかを見極める必要があると思われる。ここで、TMAによって測定される機械的緩和時間も、DSCによるエンタルピー緩和時間と同様

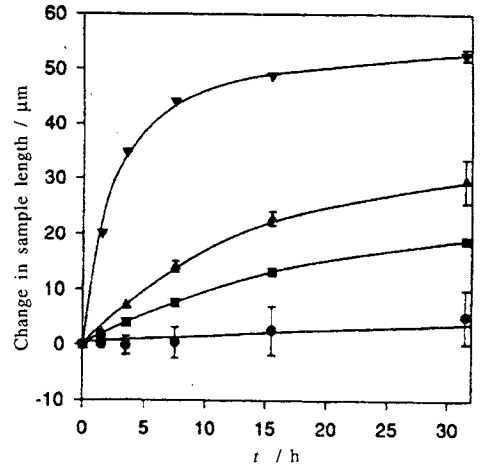


Fig.4 Changes in the length of glassy PVP films. ● T_g -119; ■ T_g -99; ▲ T_g -79; ▼ T_g -32.

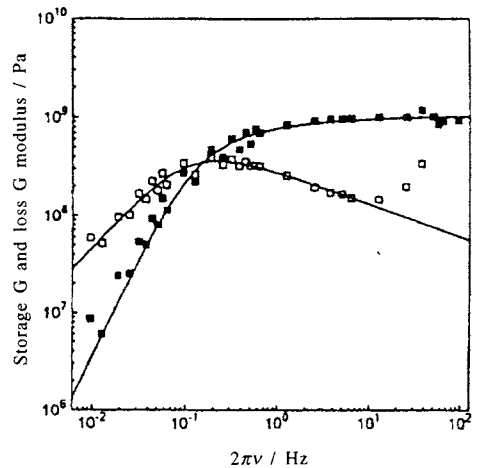


Fig.5 Shear storage (■) and loss (□) modulus of amorphous indomethacin as a function of radian frequency at 44°C .

に、その値が測定時の試料冷却速度に大きく影響されることに注意しなければならない。

インドメタシンのガラスについては、その運動性がDMAによっても検討されている。³⁾ インドメタシンのガラスは、 44°C においてFig.5に示す複素弾性率と損失弾性率を示した。損失弾性率の曲線はシンメトリックではないが、これは、いくつかの分子が分子間相互作用によって協同的に運動して、非指数関数的に緩和するためか、あるいは指数関数的に緩和するけれどもガラスが不均一で緩和時間に分布

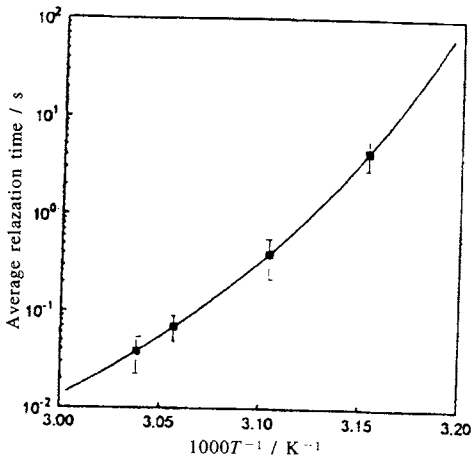


Fig.6 Arrhenius plot of average relaxation time for amorphous indomethacin. The line represents the best-fit line to the VTF equation.

があるためであると考えられている。緩和時間の分布を考慮して計算した平均の緩和時間 τ は、Fig.6に示すようにVTF式(2式)にフィットし、 T_g では100s、23℃では約3年の値を示すことがわかる。

$$\tau = \tau_0 \exp [DT_0/(T - T_0)] \quad (2)$$

このようにして得られた緩和時間も、製剤中で起こっているなんらかの状態変化の速度を表しており、医薬品の有効期間と密接な関係を持つと思われる。ここで、 T_0 はフィッティングによって、 T_g よりも58℃低い256 Kと推定されている。すなわち、265 Kまで温度が低下すれば、インドメタシンのガラスはほとんど動かない状態になると考えられ、この温度以下であれば、長期にわたって保存しても問題となる品質変化は起こらないと予想される。

4. モノクロナル抗体の凍結乾燥製剤のエントルピー緩和時間による安定性評価

T_g 以下の分子運動性をDSCによって測定し、それに基いて通常の保存条件における製剤の安定性を予測しようとする試みは、モノクロナル抗体を含有する凍結乾燥製剤についても行われている。^{4,5)} ショ糖を添加剤として用いた凍結乾燥製剤は40℃に保存するとFig.7に示すようなエントルピー緩和を示した。(1)式にしたがって計算したエントルピー緩和時間は非線形の温度依存性を示し(Fig.8)、ある程度のフラジリティをもったガラスであることがわかった。VTF式にフィットすることによって、 τ_0 は 10^{-6} h、 T_0 は(T_g-80)の値が推定された。添加剤としてトレハロースを用いた製剤では、Fig.8に示すようにショ糖の製剤よりも

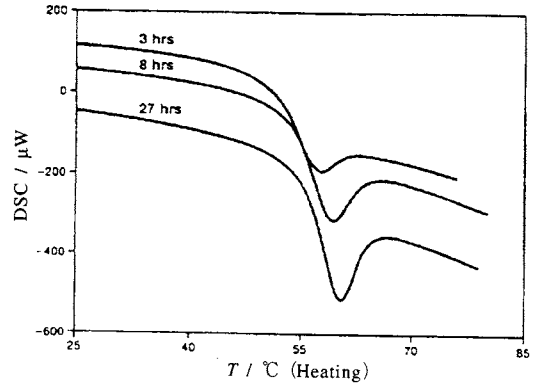


Fig.7 Enthalpy recovery of sucrose formulation stored at 40℃ (T_g-19).

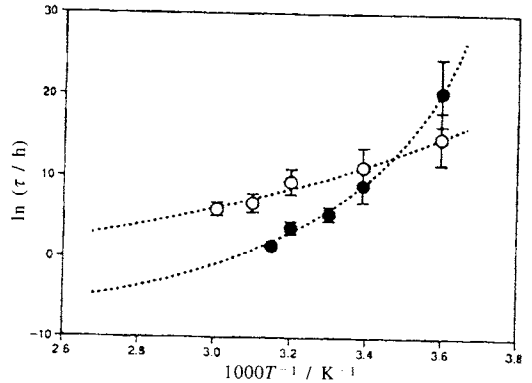


Fig.8 Relaxation time constant for sucrose (●) and trehalose (○) formulations. The dashed lines represent the best-fit lines to the VTF equation.

τ の温度依存性の非線形性が小さく、すなわちフラジリティが小さいガラスであることがわかる(τ_0 は 10^{-4} h、 T_0 は(T_g-169))。

これらの二つの製剤の τ は12℃付近で交叉しており、それより温度が上昇するとショ糖の製剤では τ が大きく減少するため、トレハロースの製剤よりも低い温度に T_g をもつことになる(T_g はショ糖製剤では約59℃、トレハロース製剤では約81℃)。しかし、ショ糖製剤は低い T_g にもかかわらず、温度が12℃以下になるとトレハロース製剤よりも低い運動性を示し、5℃保存では安定性がより高いことがわかる。このようにフラジリティが異なる場合には、 T_g が高いほど運動性が低い、すなわち安定性が良いとは一概にはいえぬ。 T_g もフラジリティも異なる製剤について安定性

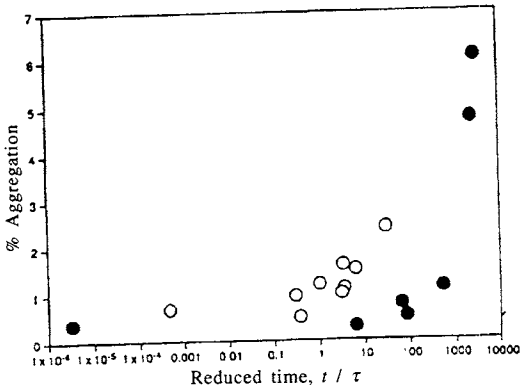


Fig.9 Antibody aggregation in sucrose (●) and trehalose (○) formulations as a function of t/τ .

を論じるには、ある温度での保存時間 t を τ で割った値 (t/τ) をスケールとして用いると便利である。Fig.9にはシヨ糖製剤およびトレハロース製剤中に含有される抗体の凝集の度合いを t/τ で表してあるが、いずれの製剤も t/τ が10以下であれば凝集は2%以下である。シヨ糖製剤およびトレハロース製剤の5℃における τ はそれぞれ、 10^8 hおよび 10^6 hであるから、 t/τ が10になる時間はそれぞれ約 10^9 および 10^7 hとなり、いずれの製剤も医薬品として十分な期間にわたって、抗体の凝集が2%以下に留まることがわかる。このようにDSCによって測定されるエンタルピー緩和時間は、製剤の安定性を大まかに推定する際に役立つと考えられる。

5. 凍結乾燥製剤の運動性と安定性の評価の手法としてのDSCおよびNMRの比較

前述したように、DSCによって測定される T_g は、医薬品の分子運動性およびそれに支配される安定性に密接に結びついた重要なパラメータであるが、試料の加熱や冷却速度など測定条件によって変化することが知られている。また製剤のように複数の成分が混合された系では不均一性などのために正確な T_g が測定できない場合が多いが、そのような場合に製剤中の分子の運動性を測定する手段としてNMR緩和測定による方法が有用になる。DSCが温度変化に伴う比熱の変化を測定するのに対して、NMR緩和では温度変化に伴う緩和時間の変化を測定することによって、運動性が大きく変化する温度を観測することができる。

凍結乾燥製剤についてプロトンの自由誘起減衰シグナルを測定すると、ある温度 (T_{mc}) 以上で高い運動性を持った液体プロトンに起因するロレンツ緩和が観察される。^{6,7)} T_{mc} はDSCによって測定される T_g と同様に製剤中の分子の運動性が急激に変化する温度であるといえるが、一般的に

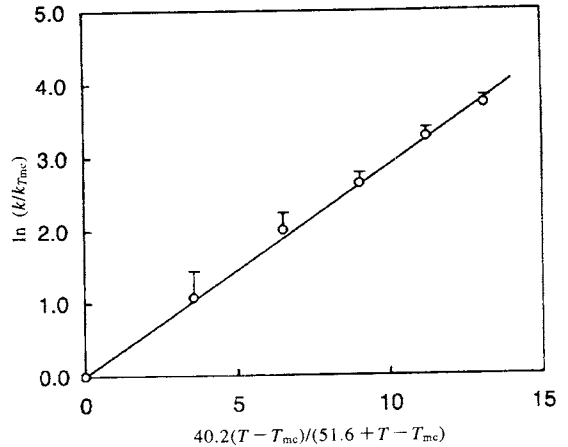


Fig.10 WLF plot of γ -globulin aggregation in freeze-dried formulation with dextran.

T_g より低い値を示す。デキストランを添加剤とした γ グロブリンの凍結乾燥製剤については、水分含量が 0.14 g/g solidでは 55°C (T_g は 79°C)、 0.19 g/g solidでは 35°C (T_g は 58°C) の値が観察されている。 T_{mc} の存在は T_g 以下でも断片的な運動は起こっていることを示しており、NMR緩和時間の変化を測定することによって、比熱の変化からでは検知できないような微小な運動を検知ことができると考えられる。 T_{mc} は T_g と同様に、添加剤の種類によって大きく変化し(ポリビニルアルコールを添加剤に用いた γ グロブリンの凍結乾燥製剤では、水分含量が 0.03 g/g solidでは 35°C であった)、また水の可塑化作用によって低下することが観察されている。

凍結乾燥製剤中のタンパク質の安定性は当然ながら T_g や T_{mc} によって変化する。デキストランを含有した凍結乾燥製剤中の γ グロブリンの凝集は、Fig.10に示すように、 T_g の項に T_{mc} を代入したWLF式(3式)にしたがって速度をプロットすると直線関係が得られたことから、 T_{mc} はこれらの凍結乾燥製剤の安定性を密接に反映するパラメータであると考えられる。このように、NMRで測定される T_{mc} は、DSCで測定される T_g と同様に医薬品の安定性評価の指標として有用である。

$$k/k_{T_{mc}} = \exp [C_1(T - T_{mc}) / (C_2 + T - T_{mc})] \quad (3)$$

おわりに

熱分析を駆使することによって医薬品の安定性評価に有用な種々のパラメータを得ることができる。本稿では特に、DSC、TMCおよびDMAについて、その医薬品の安定性評価への応用について記述したが、他稿にあるように等温熱

量測定によっても医薬品の安定性に関する貴重な情報が得られることを付け加えたい。

文 献

- 1) M. Yoshioka, B. C. Hancock and G. Zografi, *J. Pharm. Sci.* **83**, 1700-1704 (1994).
- 2) B. C. Hancock, S. L. Shamblin and G. Zografi, *Pharm. Res.* **12**, 799-806 (1995).
- 3) V. Andronis and G. Zografi, *Pharm. Res.* **14**, 410-414 (1997).
- 4) S. P. Duddu and P. R. Dal Monte, *Pharm. Res.* **14**, 591-595 (1997).
- 5) S. P. Duddu, G. Zhang and P. R. Dal Monte, *Pharm. Res.* **14**, 596-600 (1997).

- 6) S. Yoshioka, Y. Aso and S. Kojima, *Pharm. Res.* **14**, 736-741 (1997).
- 7) S. Yoshioka, Y. Aso, Y. Nakai and S. Kojima, *J. Pharm. Sci.* **87**, 147-151 (1998).
- 8) C. G. Angell, *Science* **267**, 1924-1935 (1995).

要 旨

熱分析を医薬品の安定性評価に応用する例を紹介する。医薬品が引き起こすエンタルピー緩和やメカニカル緩和を、示差走査熱量分析、熱機械分析および動的熱機械分析によって測定し、医薬品の安定性を密接に反映する分子運動性に関する情報を得る方法を考察する。