

解説

医薬品分子状態のDSC測定による評価

戸塚裕一，山本恵司

(受取日：2003年10月1日，受理日：2003年11月28日)

Evaluation of Molecular State of Medicines by Differential Scanning Calorimetry

Yuichi Tozuka and Keiji Yamamoto

(Received October 1, 2003; Accepted November 28, 2003)

This review describes the evaluation of molecular state of medicines by using differential scanning calorimetry (DSC). Thermal behavior of amorphous clarithromycin obtained by grinding and spray drying were evaluated. In DSC curves, both broad and sharp peaks for crystallization were observed in 30 min ground sample, whereas spray-dried sample showed one broad peak for crystallization. In order to study the physicochemical stability of amorphous cefditoren pivoxil, glass transition accompanying enthalpy relaxation was evaluated for the ground and spray-dried samples by means of modulated-temperature DSC. Glass transition temperature (T_g) and relaxation enthalpy of the ground sample of cefditoren pivoxil were changed by storage for definite intervals at a temperature below T_g , while those of the spray-dried sample indicated an almost constant value by storage. These results suggest that the ground sample was less stable than the spray dried sample. The ground sample might be stabilized by storage below T_g . Thermal behavior of salicylamide in the mixtures with Folded Sheets Mesoporous Materials (FSM)-16 was investigated by DSC. Three kinds of molecular states of salicylamide, *i.e.*, crystalline state, disordered crystalline state for which a broad endothermic peak was observed at a lower temperature, and amorphous state for which no peak on the DSC curves could be observed.

1. 緒言

固形製剤は医薬品と数種類の添加剤から構成されており，医薬品の溶出性やバイオアベイラビリティの改善を目的として種々の固体分散体が利用されている。固形製剤中での医薬品の存在状態を解明することは，得られた製剤の機能性や安定性向上のために必要不可欠である。医薬品分子状態の解明のために，粉末X線回折法，IRスペクトル測定，ラマンスペクトル測定，近赤外スペクトル測定，蛍光スペクトル測定，固体NMR測定，熱分析法などの様々な手法

が用いられる。熱分析法は，すでに第十三改正日本薬局方第二追補より一般試験法として収載されており，医薬品原料の多形，水和物，非晶質などの結晶形に関する情報が得られるほか，製剤の物性評価などに広範に用いられている。

我々は，難溶性医薬品の非晶質状態の評価，優れた機能性を持つ固体分散系の調製などを目的として研究を行っており，医薬品を添加剤中に混合・分散させたときに生じる医薬品添加剤間の相互作用，医薬品結晶の分子状態変化に着目している。今回，非晶質医薬品の分子状態および，医薬品添加剤間の相互作用について，主に示差走査熱量

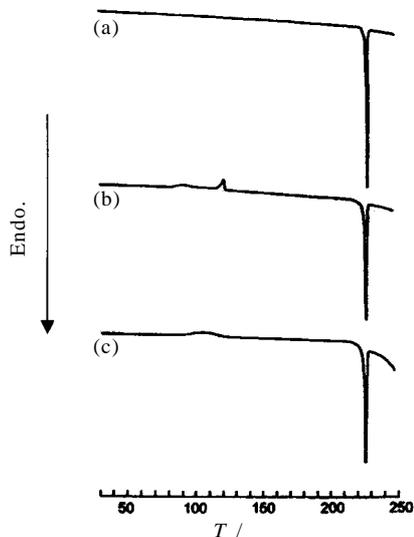


Fig.1 DSC curves of Clarithromycin: (a) intact, (b) ground for 30 min, (c) spray dried sample. Heating rate, 5 min⁻¹; aluminium open pan.

測定 (DSC) を用いて検討を行った結果について報告する。

2. 調製法の異なる Clarithromycin 非晶質の示差走査熱量測定 (DSC) による評価

医薬品原末結晶の物性変化, 特に水への初期溶出性の改善などを目的として, しばしば医薬品原末結晶の非晶質化が試みられる。医薬品原末結晶を非晶質化する手法としては, 医薬品原末の単独粉碎, 凍結乾燥法, 噴霧乾燥法, 融解急冷法などが知られており, これらの手法により調製された非晶質医薬品は, 通例粉末 X 線回折測定 (XRD) や IR スペクトル測定において, 調製方法によらず類似した回折パターンやスペクトルを示すことが多い。しかしながら粉末 X 線回折パターンや IR スペクトルのみの情報では, 同様の非晶質とみなされる試料であっても, DSC では異なる熱挙動をとるケースが観察される。

Fig.1 にはマクロライド系抗生物質として市販されている Clarithromycin の, 原末結晶 (intact), 30 分単独粉碎物, および噴霧乾燥物の DSC 曲線を示した。Clarithromycin の 30 分粉碎物, および噴霧乾燥物は XRD においてはほぼ同様の回折パターンを示すが, Fig.1 に示すように DSC では結晶化に伴う発熱ピークの形状が異なっている。Fig.1(b) に見られるように Clarithromycin の 30 分粉碎物では 75 ~ 115 の間で観察されるブロードなピークと 120 付近に観察されるシャープなピークが認められている。一方, 噴霧乾燥物 (Fig.1(c)) では 85 ~ 120 付近にブロードなピー

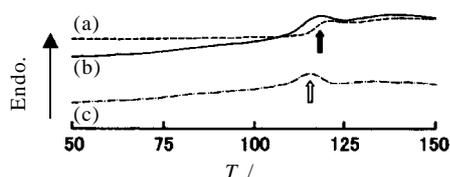


Fig.2 Specific heat capacity curves of modulated-temperature (MT) DSC for spray dried cefditoren pivoxil; (a) Storage C_p (reversing component), (b) Total C_p , (c) Total C_p -Storage C_p (non-reversing component).

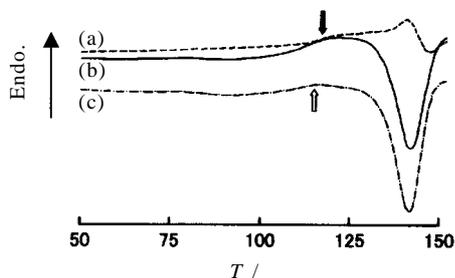


Fig.3 Specific heat capacity curves of MT DSC for 30 min ground cefditoren pivoxil; (a) Storage C_p (reversing component), (b) Total C_p , (c) Total C_p -Storage C_p (non-reversing component).

クが観察されるのみである。米持らは, 溶解度パラメータの検討から, Clarithromycin の 30 分粉碎物および噴霧乾燥物では表面極性が異なることを報告している。¹⁾ また, 30 分粉碎物および噴霧乾燥物を 40, 75 %RH で 1 週間調湿保存したところ, 両試料とも X 線回折パターン上に Clarithromycin 結晶に特徴的な回折ピークが認められるものの, 噴霧乾燥物は 1 週間の保存により完全に結晶化されるのに対し, 30 分粉碎物では 1 週間の保存では完全な結晶化は認められなかった。これらの結果は, 調製法の違いが非晶質の安定性に影響することを示唆しており, DSC で観察された熱挙動の違いを反映していると推察された。

3. 温度変調 DSC を利用した Cefditoren pivoxil 非晶質のガラス転移温度の同定

非晶質医薬品の性質は製造方法や保存条件などのさまざまな要因に影響されることが知られている。非晶質状態の安定性はガラス転移温度 (T_g) やエンタルピー緩和 (ΔH) により評価されているが²⁾ 従来の DSC ではガラス転移とエンタルピー緩和による吸熱ピークは DSC 曲線上では重なって観測されるため, T_g を明瞭に識別したり, ΔH を精度よ

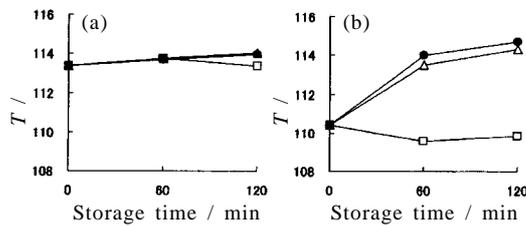


Fig.4 Change of glass transition temperature as a function of storage time for amorphous cefditoren pivoxil: (a) Spray-dried sample, (b) Ground sample for 30 min. Storage temperature: 80 , 90 , 100 ($n = 2$).

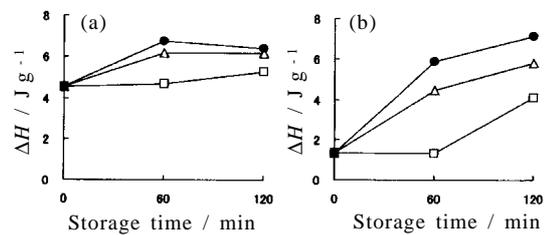


Fig.5 Change of relaxation enthalpy as a function of storage time for amorphous cefditoren pivoxil: (a) Spray-dried sample, (b) Ground sample for 30 min. Storage temperature: 80 , 90 , 100 ($n = 2$).

く定量することは困難である。近年開発されている温度変調DSCは高分子の物性評価などで多くの報告があり、その特徴は、昇温速度依存性の転移と温度依存性の転移を分離可能な点にある。したがって温度変調DSCを用いることにより、変調速度に追従できるガラス転移と追従できないエンタルピー緩和を区別することが可能と考えられる。

Fig.2, Fig.3にはセファロsporin系抗生物質のCefditoren pivoxilの噴霧乾燥物および30分粉碎物の温度変調DSCによる結果をそれぞれ示した。温度変調DSCの熱流曲線 (Fig.2(b)およびFig.3(b))は従来のDSC測定で得られる曲線と同様の情報を与える。^{3,4)} この熱流曲線を全比熱 (Total C_p) と表したとき、温度変調DSCでは温度変調に対して追従可能な成分を貯蔵比熱 (Storage C_p) として分離して捕らえることが可能であり、全比熱から貯蔵比熱を差し引くことによって温度変調に対して追従できない非可逆成分 (non-reversible component) が求められる (Fig.2(c)およびFig.3(c))。Cefditoren pivoxilの噴霧乾燥物および30分粉碎物の両者共に、貯蔵比熱からは黒矢印で表されるように吸熱ピークを伴わないベースラインのずれのみが観測され、一方、非可逆成分の曲線からは白矢印で表すようにベースラインのずれを伴わない吸熱ピークが認められた。したがって温度変調DSCにより、ガラス転移とエンタルピー緩和による吸熱ピークが分離可能であることが示され、特に30分粉碎物においては、従来のDSCではほとんど検出困難であった二つの現象を分離してとらえることが可能であった。

Fig.4, Fig.5にはCefditoren pivoxilの噴霧乾燥物および30分粉碎物をそれぞれガラス転移温度以下で等温保存したときの T_g および ΔH の変化を示した。⁵⁾ なお、ベースラインのずれのonset温度を T_g 、非可逆成分の曲線から得られるピーク面積を ΔH とした。噴霧乾燥物では、保持時間や温度に依存せず T_g は約113~114、 ΔH は約5~6 J g⁻¹を示した。一方粉碎物では保存前において T_g は110、 ΔH

は1.3 J g⁻¹を示し、保持時間や保存温度の変化に伴って T_g 、 ΔH 共に顕著な変動を示した。Hancockらにより、非晶質固体の物理的安定性はガラス転移温度よりも低い温度での十分な保存により改善されることが報告されている。²⁾ また、十分にannealingした非晶質試料は T_g および ΔH の値がそれぞれ114および6.0 J g⁻¹を示した。それゆえに粉碎物は十分に安定ではなく、N₂ガス気流下の乾燥雰囲気中におけるガラス転移温度以下での保存によって安定化されたが、噴霧乾燥物は十分に安定であったものと推察された。松田らは噴霧乾燥法により T_g の異なる二つの非晶質フロセミドを調製し、高い T_g を有する非晶質のほうがガラス転移における活性化エネルギーが高いことを述べており、⁶⁾ 噴霧乾燥物中の非晶質領域のほうが、粉碎物に比べてエネルギーレベルの点において安定であると推察された。

4. 多孔性添加剤中での医薬品分子状態のDSCによる検討

添加剤として細孔構造を有する多孔性添加剤を用い、医薬品との固体分散系を調製した場合の医薬品多孔性添加剤間の相互作用についてDSCにより検討した。添加剤としては均一な細孔 (21) が規則的に配列したメソポーラスシリカFolded Sheets Mesoporous Materials (FSM)-16を使用した。今回使用したFSM-16(Do)は1000 m² g⁻¹以上の大きな比表面積をもち耐熱性、耐圧性も高い添加剤である。医薬品としてSalicylamideを用いた混合系のDSC測定の結果をFig.6に示した。Salicylamide結晶は140に融解の吸熱ピークを示し、25% Salicylamide結晶と75% FSM-16(Do)を混合した混合物には140にSalicylamide結晶の融解に由来する吸熱ピーク、さらにこの融解ピークの低温側にブロードな別のピークが認められ、SalicylamideとFSM-16(Do)との間に何らかの相互作用が発現していた。また、加熱後の試料を一旦冷却して再度DSC測定を行った試料および、混合物に予め120・3時間の密封加熱処理を行

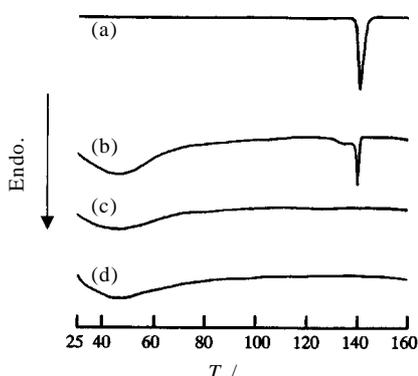


Fig.6 DSC thermograms of 25 % salicylamide - 75 % FSM-16(Do) system. (a) salicylamide crystals, (b) physical mixture (1st run), (c) physical mixture (2nd run), (d) sealed heated sample. Heating rate, 5 min⁻¹.

った試料ではFSM-16(Do)中に存在する水分の脱水に伴うブロードな吸熱ピーク(25 - 60)の他にはピークは認められず, Salicylamide が加熱操作中に完全にFSM-16細孔中に吸着されたことが示唆された。これらDSC曲線に観測される変化は, 蛍光スペクトル測定, 時間分解蛍光スペクトル測定などからも検討を加えており, 加熱中のFSM-16(Do)細孔へのSalicylamide 吸着による分子状態変化が確認された。⁷⁾

次に薬品として安息香酸を使用し, 系中の安息香酸含量を変化させたときのFSM-16(Do)との相互作用について検討した。Fig.7には, 安息香酸とFSM-16(Do)を混合比を変化させ, 5分間混合した試料のDSC曲線(1st run)および, 室温まで降温させた後に再びDSC測定を行った(2nd run)結果を示す。安息香酸含有量が30%以下の系では, 1st run, 2nd runともに安息香酸結晶の融解に伴う吸熱ピークは認められないため, 安息香酸は系中に結晶として存在せず, さらに, 一度FSM-16(Do)に吸着した安息香酸分子は, 加熱処理後も系中に分散した状態で安定に存在すると推察された。安息香酸含有量が50%以上の系では, 1st run, 2nd runともに110 付近のブロードな吸熱ピークと122 の鋭い吸熱ピークの2つのピークが観察された。二つのピークのうち高温側に認められるピークは安息香酸の融点(122)と一致していることから, このピークはFSM-16(Do)と相互作用を起こさずに存在している過剰な安息香酸結晶に基づくものと考えられた。仲井等は, 医薬品と多孔性ガラス粉体(Controlled Pore Glass: CPG)の混合系において, 三つの状態が存在することを提唱しており, DSC曲線上で, 医薬品結晶の融解に基づく鋭い吸熱ピークをPhase 1, 融点よりも低温側にブロードな吸熱ピークを示す状態すなわち

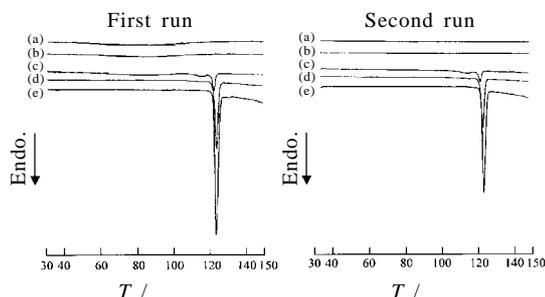


Fig.7 DSC curves of benzoic acid (BA)-FSM-16 physical mixtures. (a) FSM-16(Do), (b) 30 % BA-FSM-16(Do), (c) 50 % BA-FSM-16(Do), (d) 70 % BA-FSM-16(Do), (e) BA crystals. Heating rate, 5 min⁻¹.

結晶格子に乱れを生じた状態をPhase 2, DSC曲線上で何等熱の出入りが検知されない状態, すなわち非晶質もしくは表面に吸着した状態をPhase 3と識別している。⁸⁾ また, 安息香酸とCPGの系では, 2nd runにおいてPhase 2の融解に由来する吸熱ピークが二つに分裂することが報告されており,⁹⁾ FSM-16との混合系におけるDSC曲線がCPGの実験結果と異なることは, FSM-16(Do)の細孔構造, 比表面積の違いなど様々な要因が考えられるため, 今後更なる検討を行う予定である。

DSC測定により得られる安息香酸結晶の融解に伴う吸熱のエントルピー量に基づいて, 安息香酸の吸着量に関する検討を行った。122 に認められる吸熱は結晶の融解によるものであり, ここで認められる吸熱エントルピー量 q が系中の結晶として存在する安息香酸量に比例すると仮定すると, FSM-16(Do) 1g中に非晶質あるいはdisordered stateとして存在する安息香酸量 A は次式で示される。

$$A = \frac{X(1 - q/Q)}{100 - X}$$

ここで X は重量混合パーセント, Q は安息香酸純品の融解エントロピー量である。安息香酸含有量をFSM-16(Do)に対する安息香酸の重量比(安息香酸/FSM-16 = $X/(100 - X)$)に換算して横軸に, FSM-16(Do) 1gに吸着した安息香酸量を縦軸にプロットした結果をFig.8に示した。1st run, 2nd runどちらの結果からも, 安息香酸含有量が40%程度以下の系では, 系中に存在する安息香酸はすべてFSM-16(Do)に吸着しており, 安息香酸含有量が50%以上の系では, FSM-16(Do) 1gに安息香酸が約0.8g吸着可能と考えられた。この値がFSM-16(Do)に吸着可能な安息香酸の飽和量を示すと考えられ, 飽和量を超えた安息香酸を仕込んだ場合には, 安息香酸は結晶のまま系中に存在すると推察

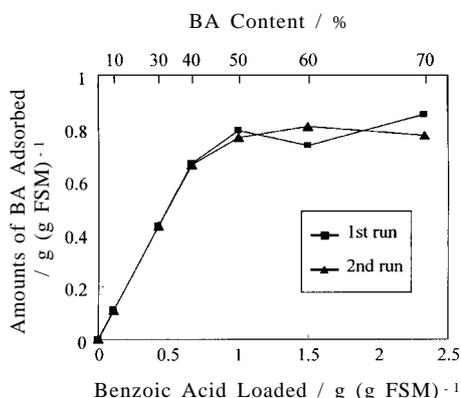


Fig.8 Amounts of BA adsorbed as a function of BA loaded in physical mixtures with FSM-16(Do).

された。一般に、非晶質化した有機化合物は不安定であり、加熱などによって結晶化してしまうが、FSM-16(Do)に吸着した分子は熱をかけても再結晶化することなく安定に存在することが示された。

文献

- 1) E. Yonemochi, S. Kitahara, S. Maeda, S. Yamamura, T. Oguchi, and K. Yamamoto, *Euro. J. Pharm. Sci.* **7**, 331-338 (1999).
- 2) B. C. Hancock, S. L. Shamblin, and G. Zografi, *Pharm. Res.* **12**, 799-806 (1995).
- 3) M. Ohta, Y. Tozuka, T. Oguchi, and K. Yamamoto, *Chem. Pharm. Bull.* **47**, 1638-1640 (1999).
- 4) M. Ohta, Y. Tozuka, T. Oguchi, and K. Yamamoto, *Drug Dev. Ind. Pharm.* **26**, 643-649 (2000).
- 5) M. Ohta, Y. Tozuka, T. Oguchi, and K. Yamamoto, *J. Pharm. Sci. Technol., Jpn.* **60**, 160-165 (2000).
- 6) Y. Matsuda, M. Otsuka, M. Onoe, and E. Tatsumi, *J. Pharm. Pharmacol.* **44**, 627-633 (1992).
- 7) Y. Tozuka, T. Oguchi, and K. Yamamoto, *Pharm. Res.* **20**, 926-931 (2003).
- 8) Y. Nakai, K. Yamamoto, and S. Izumikawa, *Chem. Pharm. Bull.* **37**, 435-438 (1989).
- 9) 米持悦生, 山本恵司, 熱測定 **25**[4], 111-116 (1998).

要旨

DSCを用いて医薬品の分子状態の評価を行った。粉碎および噴霧乾燥処理により得られた非晶質 Clarithromycin の DSC 測定を行ったところ、結晶化に伴う発熱ピークの形状が異なっており、30分粉碎物はブロードおよびシャープな二つのピークが認められるが、噴霧乾燥物ではブロードなピークのみが観察された。Cefditoren pivoxil 非晶質の安定性について検討するため、ガラス転移およびエンタルピー緩和に関して温度変調 DSC を用いた測定を行った。Cefditoren pivoxil の噴霧乾燥物および30分粉碎物をそれぞれガラス転移温度以下で等温保存した時、噴霧乾燥物では保持時間や保存温度を変化させても、 T_g およびエンタルピー緩和量はほとんど変化しなかったが、30分粉碎物では、保存温度と保持時間を変化させることにより T_g およびエンタルピー緩和量は変動した。噴霧乾燥物の安定性は30分粉碎物に比べ高いことが認められており、30分粉碎物は等温保存中に安定化したと推察された。メソポーラスシリカ FSM-16(Do) と Salicylamide を混合したときの熱挙動を検討した。DSC 測定により Salicylamide の三つの状態、すなわち、Salicylamide 結晶、融点よりも低温側にブロードな吸熱ピークを示す結晶格子に乱れを生じた状態、DSC 曲線上で熱の出入りが検知されない非晶質もしくは表面に吸着した状態を区別することが可能であった。



戸塚裕一 Yuichi Tozuka
千葉大学大学院薬学研究院, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Chiba Univ., TEL. 043-290-2938, FAX. 043-290-2939, e-mail: ytozuka@p.chiba-u.ac.jp
研究テーマ: 製剤添加剤中の医薬品分子状態の解明
趣味: フィットネス, 音楽鑑賞



山本恵司 Keiji Yamamoto
千葉大学大学院薬学研究院, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Chiba Univ., TEL. 043-290-2937, FAX. 043-290-2939, e-mail: yamamotk@p.chiba-u.ac.jp
研究テーマ: 医薬品ナノ粒子の調製
趣味: 旅行, 時刻表を読むこと