

解 説

固体医薬品の安定性評価と微少熱量計の応用

吉橋泰生, 米持悦生, 寺田勝英

(受取日: 2004年2月17日, 受理日: 2004年2月28日)

Application of Isothermal Microcalorimetry for Stability Evaluation of Solid Dosage Form

Yasuo Yoshihashi, Yonemochi Etsuo, and Katsuhide Terada

(Received February 17, 2004; Accepted February 28, 2004)

This review demonstrated the possibility of application of isothermal microcalorimetry (IMC) for stability evaluation of solid dosage form. Various kinetic equations derived from the different reaction model in the solid state were applied for the obtained data using isothermal microcalorimeter. Suitable decomposition rate constant was successfully derived from the most appropriate kinetic equation evaluated by curve fitting method. Experimental decomposition rate constant of solid dosage form was determined by the time-consuming conventional method, which took more than 6 months. The predicted values were in good agreement with the experimental values. By using this method, the stability of solid dosage form can be predicted by a simple operation in a short time. Application of IMC would be useful for the screening test for the drug stability.

1. はじめに

医薬品の開発及び生産は安全性試験及び臨床試験の基準, 製造管理及び品質管理規則などに沿ったものであり, その品質は製造, 輸送, 保存を通して保証される必要がある。最近では医薬品産業のグローバル化により新薬の開発競争が激化しており, 研究開発費用も高騰している。研究開発の初期段階では, リード化合物から発生した数多くの化合物について薬理, 毒性, 薬物動態, 物性面から絞り込みを行うため, 安定性についてもなるべく短期間に効率よく評価する必要がある。医薬品の安定性評価はその品質保証における重要な評価項目であり, ICH (International Conference of Harmonization) で合意されたガイドラインに準拠した申請用安定性試験の他, 前臨床から市販後にかけての各段階で多様な安定性試験が実施される。すなわち, 原薬自身の

安定性のみならず製剤化時における安定性も考慮しなければならない。原薬自身の安定性においては, 医薬品の有効性及び安全性を維持するために必要な品質の安定性を評価し, 医薬品の貯蔵方法及び有効期間の設定に必要な情報を得る必要がある。このため, 安定性試験は医薬品を製造するにあたり最も重要な試験の一つと考えられている。原薬及び医薬品製剤の安定性試験に適用される期間及び条件は, 長期試験で12ヵ月, 25 ± 2 / 60 ± 5 %RH, 加速試験で6ヵ月, 40 ± 2 / 75 ± 5 %RHである。さらに, 原薬と添加剤の配合による安定性の評価を行わなければならない。一般的には, 処方決定のための添加剤のスクリーニングは, 医薬品と添加剤の混合物を 40 ± 2 / 75 ± 5 %RH で3ヶ月間保存したもので評価を行う。従って安定性評価には, かなりの日数がかかるのと同時に, HPLC などによる煩雑な主薬の定量を行わなければならない。このことから, 安定性試験を行うに

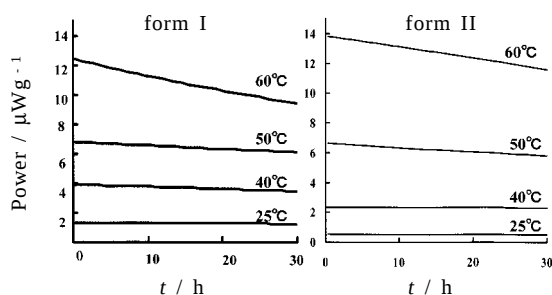


Fig.1 Comparison of heat flow-time curves of form I and form II at 25, 40, 50, 60 °C.

は多大な時間と労力を要することになる。

熱分析は、物性分析法として多方面で利用されている。特に、示差走査熱量計（DSC）は、結晶多形や水和物のキャラクタリゼーション、結晶転移、ガラス転移、結晶化などの物性評価に簡便な方法として汎用されてきた。そのような流れの中、等温微少熱量計はDSCよりも数千倍の感度を有する機器として開発された。しかし、操作にノウハウを必要とするため今まで製剤分野での応用はあまり行われてこなかった。最近、等温微少熱量計を用いた安定性評価法や配合変化評価法に関する研究が行われるようになってきた。これらの評価法は、上述の評価法に比べ、簡単に短期間の評価が可能であるという特徴を有している。¹⁻⁴⁾

そこで、今回微少熱量計による医薬品の安定性及び配合変化の評価に関する研究の成果や問題点などについて解説する。

2. 等温微少熱量計による医薬品の安定性評価法と実例

2.1 試料の基礎物性の評価

医薬品の安定性を評価する場合、単純に試料を微少熱量計に充填し試料から発生する分解熱を測定するだけであれば何も問題は無い。しかし、現実には医薬品を開発する場合、測定試料が単一の成分であり均一な分子状態であることはほとんどない。熱量測定はその特性上何でも測定できるものの、何が起きているかわからない場合が多く、事前にできるだけ試料に関する基礎物性を調べておくことが重要となる。ここでは、医薬品Aの安定性評価について微少熱量計を用いて検討した例を紹介する。医薬品Aには結晶多形I形とII形の2種類が存在し、I形が安定形およびII形が準安定形であることが、DSCによる融点及び融解熱測定の結果から確認されている。等温微少熱量計測定（IMC）による熱流量-時間曲線をFig.1に示す。熱流量測定を25から60 °Cにおいて約3日間行い、単位重量あたりの発熱量を比較したところ、50 °C以下では多形Iの方が多形IIに比

Table 1 Value of m for solid state kinetic equation.

kinetic equation	m	Decomposition mechanism
$\alpha^2 = kt$	0.62	1d-diffusion
$(1 - \alpha)\ln(1 - \alpha) + \alpha = kt$	0.57	2d-diffusion
$1 - (2/3)\alpha - (1 - \alpha)^{2/3} = kt$	0.57	3d-diffusion
$[1 - (1 - \alpha)^{1/3}]^2 = kt$	0.54	Jander
$-\ln(1 - \alpha) = kt$	1	first order
$1 - (1 - \alpha)^{1/2} = kt$	1.11	2d-phase boundary
$1 - (1 - \alpha)^{1/3} = kt$	1.07	3d-phase boundary
$\alpha = kt$	1.24	zero order
$[-\ln(1 - \alpha)]^{1/2} = kt$	2	Avrami-Erofe'ev
$[-\ln(1 - \alpha)]^{1/3} = kt$	3	Avrami-Erofe'ev
$[-\ln(1 - \alpha)]^{1/4} = kt$	4	Avrami-Erofe'ev

べ発熱が大きく、それ以上の温度では逆転していた。結晶多形I形とII形では、同一化合物であるので単位重量当たりの分解熱量はほぼ同じと考えられる。すなわち、熱力学的に安定形である多形I形の方が分解量が少ないと考えられ、結果として、総発熱量は多形II形に比べ少ないはずであるが、Fig.1の結果は、これに矛盾していた。この理由は、反応するサイトが多形Iの方が多形IIに比べ多い、即ち比表面積が大きいと推察され、実際試料の比表面積あたりの発熱量を比較検討したところ、多形Iのほうが測定範囲の温度に関してはより安定形であることが確認された。粉体試料を等温微少熱量計で測定する場合では、その分解は粒子表面から進行する場合が多く、測定する試料の比表面積の評価は必須と考えられる。

2.2 医薬品の分解機構の評価と分解速度定数の予測

微少熱量計により得られた熱流量-時間曲線を用いて分解速度定数の予測を行う場合、分解機構の正確な評価なしには、精度の高い分解速度定数は得られない。一般的には、種々の温度での試料の分解熱測定データについて、分解機構の評価法であるHancock Sharp式(1)へのあてはめを行い、分解機構を決定する。⁵⁾

$$-\ln[\ln(1 - \alpha)] = \ln B + m \ln t \quad (1)$$

ここで、 α は分解率、 t は時間、 B は定数である。

(1)式より得られた m 値から、分解機構を予測することが可能となる。種々の反応機構における m 値をTable 1に示した。ところで、(1)式を微少熱量計により得られる実験データへ適用する場合、分解率を発生熱量で表したほうが扱いやすい。さらに、測定開始時にはすでに試料の分解が進んでいることを考慮すると、(2)式を用いたほうが実用性が

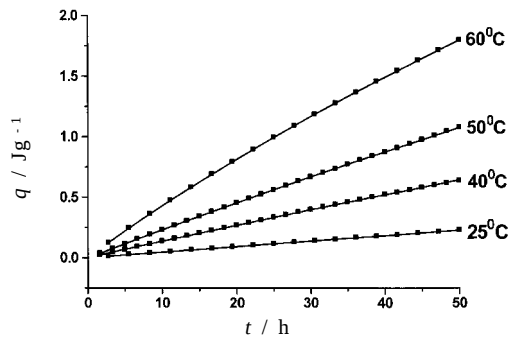


Fig.2 Fitting curves of Jander equation for IMC data of form I at 25, 40, 50, 60 °C.

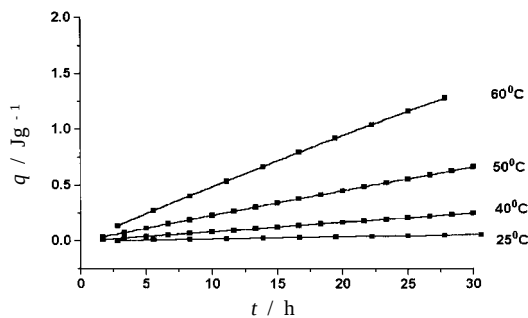


Fig.3 Fitting curves of Jander equation for IMC data of form II at 25, 40, 50, 60 °C.

高い。

$$q = Q(1 - (\exp(B(t + t_0)^m)) - q_0 \quad (2)$$

q : 1 gあたりの時間 t までの分解熱 (J)

Q : 1 gあたりの全分解熱量 (J)

t_0 : 熱量計に試料をセットしてから測定を始めるまでの時間 (h)

q_0 : 熱量計に試料をセットしてから測定を始めるまでに発生した熱量 (J)

前述の医薬品Aの場合、多形I及び多形IIの微少熱量計データは、25 から 60 において良好な(2)式への適合性が認められ、 m 値は実験温度に関係なく0.54となった。このことから多形I及び多形IIは温度に関係なく三次元拡散律速反応のJander式に従うと予測された。この結果、(3)式で示されるJander式を用いることにより、多形Iおよび多形IIについて種々の温度における分解速度定数の決定が可能となる。^{6,7)} Jander式は、試料を球形とみなした時の式であるので、次式で表される。

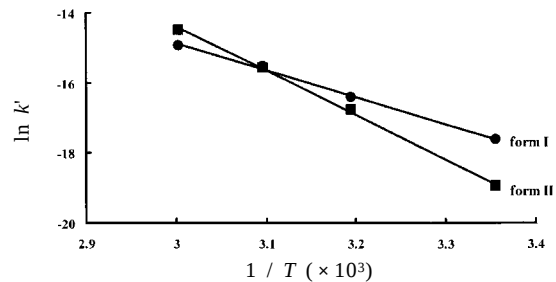


Fig.4 Arrhenius plots of apparent decomposition rate constants (k') for form I and II calculated from IMC data.

$$\{1 - (1 - \alpha)^{1/3}\}^2 = kt/r_0^2 \quad (3)$$

k は反応速度定数 ($\text{h}^{-1} \text{m}^2$), r_0 は粒子半径 (m) である。ここで $k' = k/r_0^2$ とすると k' は見かけの速度定数 (h^{-1}) としてあらわされ、(3)式は

$$\alpha = 1 - (1 - (k' t)^{1/2})^3 \quad (4)$$

となる。ここで $\alpha = (q + q_0)/Q$, $t = t + t_0$ とすると

$$q = Q(1 - (k'(t + t_0))^{1/2})^3 - q_0 \quad (5)$$

となる。そこで q vs t の関係をプロットし、Jander式に当てはめるところ、Fig.2に示すように(5)式の実験データへの良好な適合性が確認されている。さらにFig.3からも明らかのように、多形IIについても多形I同様、各温度においてJander式に良く当てはまっており、 k' が予測可能であった。

2.3 分解速度定数の温度依存性

医薬品の安定性試験の際には、一般的には(6)式に示されるArrhenius式を用いた速度論的解析による安定性予測が行われる。⁸⁾

$$k = A \exp(-Ea/RT) \quad (6)$$

ここで、 Ea は活性化エネルギー、 T は温度、 A は頻度因子、 R は気体定数である。

この方法は、加速温度条件下で保存した試料の残存率をHPLCなどにより経時的に測定し、(6)式に従い目的とする室温付近の温度に外挿するものである。しかし、速度定数の外挿には分解機構が温度によって変化しないという条件が必須なため、適用範囲が限られる。実際には25 における数年間の安定性については、規格設定された定量法により多大な時間と労力を使って評価されている。今回の例である医薬品Aの多形Iと多形IIの見かけの速度定数 k' の対数と $1/T$ の関係をFig.4に示した。両多形とも良好な直線関係

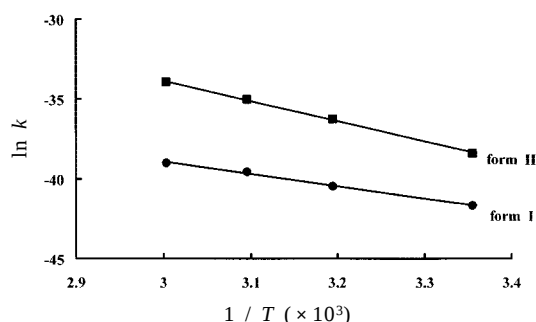


Fig.5 Arrhenius plots of decomposition rate constants for form I and II.

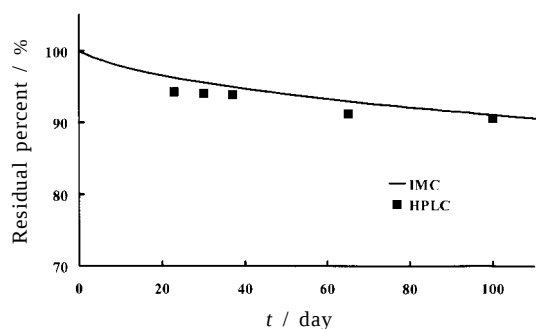


Fig.6 Decomposition profile of form II obtained by IMC and actual remaining percent determined by HPLC at 60 °C.

が得られ分解機構が温度によって変化していないことが確認された。又、活性化エネルギーを算出したところ多形Iでは 64.5 kJ mol^{-1} 、多形IIでは $105.4 \text{ kJ mol}^{-1}$ であり、多形IIの方が多形Iよりも温度に対する分解速度の影響が大きいことが示唆された。50 °C以下では多形IIの方が安定であるが、60 °Cでは多形Iの方が安定であった。しかし、実際の試料の安定性は、多形Iが室温付近でも安定であることが確認されている。このため、何らかの試料の物性値が、IMCによる安定性の評価に影響していることが推察された。ところでJander式は、試料を球形とみなし粒子径を考慮に入れた式である。そこで両多形の粒子径を測定した結果、粒子半径が異なっていることが明らかとなった。多形IIの粒子半径は $29.7 \mu\text{m}$ であり、多形I ($3.0 \mu\text{m}$) の約10倍であった。この結果より分解速度定数は多形IIの方が100倍大きいことが予想され、このことを考慮にいれて速度定数 k を算出し、Arrhenius plotを行った。Fig.5に粒子半径を考慮したArrhenius plotを示す。図からも明らかなように前述の分解熱に及ぼす比表面積の影響と同様、測定範囲の全

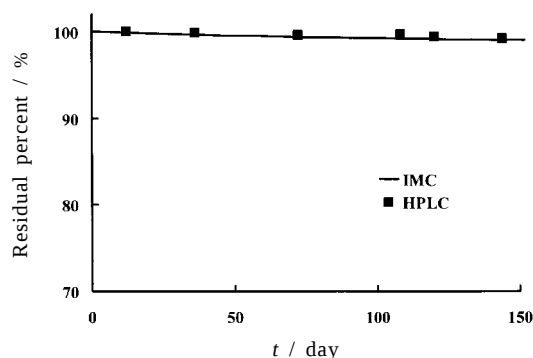


Fig.7 Decomposition profile of form II obtained by IMC and actual remaining percent determined by HPLC at 25 °C.

ての温度で多形Iの方が多形IIに比べ安定形であることが確認され、試料の物性値が分解速度定数の予測に重要であることが確認された。

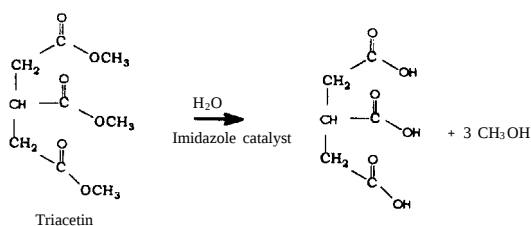
2.4 分解速度定数の予測値と実験値の比較

Fig.6に多形IIの60 °Cにおける微量熱量計の測定値から予測した残存率曲線とHPLCより実測した残存率の比較を示す。微量熱量計より推測した値とHPLCによる定量値はほぼ一致しており、多形IIは今回の実験温度範囲では、三次元拡散律速反応で分解することが裏付けられた。さらに、多形Iについても同様に、微量熱量計測定による予測値とHPLCによる定量値はかなりよい一致を示した。Fig.7に実際の保存温度である25 °Cでの等温微量熱量計により評価した分解率予測曲線とHPLCにより定量した多形IIの残存率の比較を示す。このように非常にわずかな残存率変化にもかかわらず予測結果と実測値はほぼ一致していることが示された。微量熱量計を用いた数週間程度の測定による分解率の予測値がHPLCにより1年間要して測定した結果とほぼ一致したことから、微量熱量計で行った安定性予測が従来法を適用する前の安定性試験のスクリーニングなどに利用可能であることが実証された。この方法は、実際の保存温度で測定可能なため、分解機構が温度により変化してしまう可能性のある医薬品に対しても適用可能であると考えられる。

3. 医薬品の安定性試験への適用のためには

3.1 校正用試料の必要性

微量熱量計は装置の進歩により非常に高感度となり、nWオーダーでの測定が可能となっている。これに伴い、測定した熱量の信頼性が問題となってくる。また、医薬品



Scheme The imidazole catalysed hydrolysis of triacetin.

の開発に関連した分析法には、装置の校正、測定法の標準化などが必須の項目として挙げられている。特に、分解率が2年で数%程度の安定な医薬品の場合、比較的遅い分解速度をもった標準試料による装置校正の必要性が増してきている。⁹⁾ Wilsonら¹⁰⁾は、比較的遅い数ヶ月程度で完了する反応の校正用の試料として triacetin の imidazole 触媒による加水分解を推奨している (Scheme)。しかしながら、この試料による校正を行うには、試料調製を含め測定が煩雑な点、また、triacetin の加水分解には imidazole の濃度依存性がある点などから、その運用にはさらなる検討が必要と考えられている。¹¹⁾ また、Wadsö は、遅い反応の標準試料としてアイソトープの使用が合理的であるが、使用において制限があり、一般の校正用試料としては向いていないと報告している。⁹⁾ 現在、我々は Acetylacetone の使用を検討中である。

3.2 微少熱量計を用いた分解熱測定において考慮すべき要因

分解熱測定に大きく影響する試料の物性については、熱量計による測定前にあらかじめ知っておく必要がある。例えば非晶質を含む試料の場合、非晶質部分は結晶部分に比べエネルギー的に不安定であり、結晶化の危険性をはらんでいる。¹²⁾ 結晶化熱は非常に大きいため、安定な医薬品のわずかな分解熱が検出不能となる。また、結晶化しない場合でも、非晶質の緩和熱が発生している場合もある。このように熱量計により検出される熱量に分解以外の熱量が含まれている場合には、発生している熱量の原因ごとに分離して、各分解機構の詳細な解明が必要となる。また、試料の吸湿性も分解熱測定に多大な影響を及ぼす。特に医薬品添加剤では吸湿性が高い場合があり、試料の水分吸着等温線をあらかじめ測定する事が重要である。

このほか分解熱量測定において考慮すべき点については、測定者が留意しなければならない測定方法に関する点や設置環境など装置の性能に影響する点が挙げられる。測定方法に関して考慮すべき点としては、熱量計の calibration における誤差の影響や試料のセル充填量の影響などが報告さ

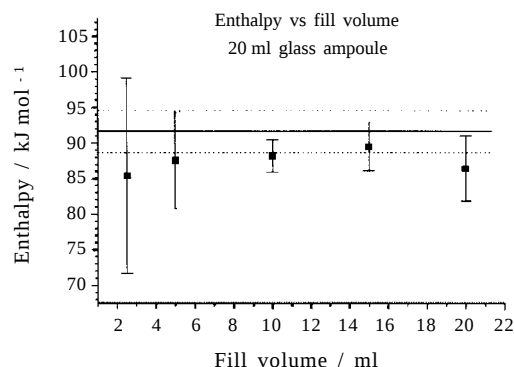


Fig.8 Enthalpy vs. fill volume for the 20 ml glass ampoule. The dotted lines represent the accepted maximum and minimum values for the enthalpy, the solid line represented the accepted mean value for the enthalpy.

れている。¹³⁻¹⁵⁾ O'Neill らは、微少熱量計の測定結果に及ぼす試料充填量の影響について報告している。¹³⁾ Fig.8 は、20 ml のガラスアンプルセルを測定に用いた際、種々の試料充填量において得られた標準試料の分解熱量の平均値とバラつきを示したものである。試料充填量が少ない場合に測定結果の変動が大きくなったことはもちろんであるが、セル容量いっぱい試料を充填した場合でも、セル上部からの熱の逃げがあるため測定結果に誤差を生じていることが確認された。この結果は、微少熱量計の測定に際しての適当な試料充填量が存在することを示しており、標準的な測定プロトコールの必要性を再認識させる結果であった。

装置の性能に関しては、装置の設置環境が重要であることが明らかとなっている。これは、熱量計の検出感度が非常に高いことの裏返しでもあるのだが、装置が設置されている部屋の温度変化がベースラインに明確に反映される。また、つゆの季節が存在する日本にも該当するが、湿度が高い環境においては thermopile 付近におけるわずかな水蒸気の凝縮や蒸発が、ベースラインの安定性に影響を及ぼしていることも明らかとなった。このような要因はできるだけ取り除く努力をすべきであると考えられるが、場合によっては測定結果の補正により解決できることもある。Hills らは、誤差を含んだ測定データの解析の際に考慮すべき点について報告している。¹⁴⁾ 彼らは、熱量計のキャリブレーション時の誤差、ベースライン設定時の誤差、ベースラインドリフトの影響、測定温度の変動の影響についてデータ補正が必要であることを述べている。実際の測定の際には、使用する熱量計の温度安定性やベースライン安定性などの特性を把握しておくことが重要と考えられる。

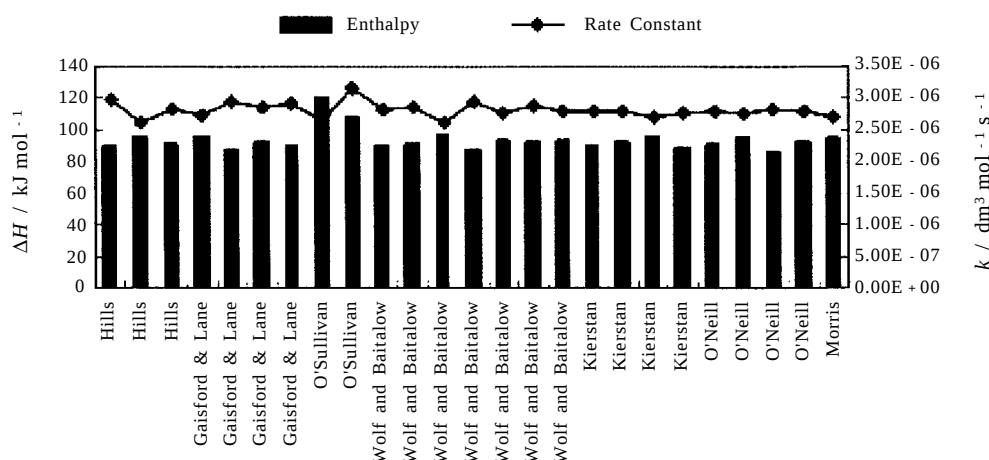


Fig.9 The rate constants and the enthalpy changes of the test reaction determined by the operators using different units.

医薬品の安定性を評価する場合には、測定結果の信頼性の保障が重要である。ある特定の特殊な熱量計でのみ測定できる結果では、上市される医薬品の安定性を保証することはできない。従って、微量熱量計による医薬品の分解熱測定においても、異なる装置間でも同一の測定結果が得られなければならない。Beezerらは、装置間の格差をtriacetinの加水分解で検討している。¹⁵⁾ Fig.9は、標準試料を用い、異なる測定者による異なる装置から得られた分解熱と分解速度定数を示している。測定結果に若干の変動はあるものの、良好な再現性を示していた。このような多くの装置を用いた装置間差の検討においては、平均的な測定結果から顕著に外れている測定結果についてその内容を詳細に吟味する必要があると思われる。今後、設置環境や測定方法の標準化を進め、本測定方法の測定精度などについて一層の検討が必要と考えられる。

4. おわりに

これまで述べてきたように、等温微量熱量計の利用により医薬品の分解機構が比較的短時間で予測できることが示唆された。等温微量熱量計を用いた固体医薬品の安定性予測法は、課題はあるものの、今後の検討により従来の試験法に比べてはるかに短時間での評価が可能であるため、現在行われている医薬品の安定性試験法のためのスクリーニング試験としての応用が可能であると思われる。しかし、本試験法は非常に高い検出感度を有するが故、装置間の格差、測定技術者による格差が試験結果に大きく影響することも明らかとなっており、装置校正をはじめとした測定の標準化が今後一層重要となると考えられる。

文 献

- 1) 寺田勝英, 山本恵司, 米持悦生, 「固体医薬品の物性評価」, じほう, (2003).
- 2) M. Angberg, C. Nyström, and S. Castensson, *Acta Pharm. Suec.* **25**, 307-320 (1988).
- 3) L. D. Hansen, E. A. Lewis, D. J. Eatough, R. G. Bergstrom, and D. DeGraft-Johnson, *Pharm. Res.* **6**, 20-27 (1989).
- 4) A. E. Beezer, S. Gaisford, A. K. Hills, R. J. Wilson, and J. C. Mitchell, *Int. J. Pharm.* **179**, 159-165 (1999).
- 5) J. D. Hancock and J. H. Sharp, *J. Amer. Ceram. Soc.* **55**, 74-77 (1972).
- 6) W. Jander, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **163**, 1-30 (1927).
- 7) W. Jander and E. Hoffmann, *Z. Anorg. Allg. Chem.* **200**, 245-256 (1931).
- 8) 吉岡澄江, 「医薬品の安定性」, 南江堂, (1995).
- 9) I. Wadsö, *Thermochim. Acta.* **347**, 73-77 (2000).
- 10) R. J. Wilson, A. E. Beezer, A. K. Hills, and J. C. Mitchell, *Thermochimica Acta.* **325**, 125-132 (1999).
- 11) A. K. Hills, A. E. Beezer, J. A. Connor, J. C. Mitchell, G. Wolf, and F. Baitalow, *Thermochimica Acta.* **386**, 139-142 (2002).
- 12) G. Buckton and P. Darcy, *Int. J. Pharm.* **179**, 141-158 (1999).
- 13) M. A. A. O'Neill, A. E. Beezer, R. M. Deal, A. C. Morris, J. C. Mitchell, J. A. Orchard, and J. A. Connor, *Thermochimica Acta.* **397**, 163-169 (2003).

- 14) A. K. Hills, A. E. Beezer, J. C. Mitchell, and J. A. Connor, *Thermochimica Acta*, **380**, 19-26 (2001).
- 15) A. E. Beezer, A. K. Hills, M. A. A. O'Neill, A. C. Morris, K. T. E. Kierstan, R. M. Deal, L. J. Waters, J. Hadgraft, J. C. Mitchell, J. A. Connor, J. E. Orchard, R. J. Willson, T. C. Hofelich, J. Beaudin, G. Wolf, F. Baitalow, S. Gaisford, R. A. Lane, G. Buckton, M. A. Phipps, R. A. Winneke, E. A. Schmitt, L. D. Hansen, D. O'Sullivan, and M. K. Parmar, *Thermochim. Acta*, **380**, 13-17 (2001)

要 旨

微少熱量計の固形医薬品の安定性評価への応用について解説した。種々の固体状態での反応速度モデルを、微少熱量計により得られる医薬品の測定データに適用した。最適な反応速度式を実験データにあてはめることにより、医薬品の分解速度定数が予測された。6カ月以上を費やし、従来から行われている煩雑な方法により分解速度定数を求めた。予測された分解速度定数と実際に測定した分解速度定数は良好に一致した。微少熱量計を用いた安定性予測の方法は、簡便かつ短期間での測定を可能とし、この方法は簡便な医薬品の安定性スクリーニング法として有用と考えられた。

吉橋泰生 Yasuo Yoshihashi
東邦大学薬学部薬剤学教室, Faculty of
Pharmaceutical Sciences, Toho Univ.,
TEL. 047-472-1369, FAX 047-472-1344,
e-mail: yasuo@phar.toho-u.ac.jp
研究テーマ：微少熱量計の医薬品製剤への応用
趣味：磯釣り

米持悦生 Etsuo Yonemochi
東邦大学薬学部薬剤学教室, Faculty of
Pharmaceutical Sciences, Toho Univ.,
TEL. 047-472-1494, FAX 047-472-1344,
e-mail: yone@phar.toho-u.ac.jp
研究テーマ：固形医薬品の表面物性の研究
趣味：登山、バレーボール

寺田勝英 Katsuhide Terada
東邦大学薬学部薬剤学教室, Faculty of
Pharmaceutical Sciences, Toho Univ.,
TEL. 047-472-1337, FAX 047-472-1337,
e-mail: terada@phar.toho-u.ac.jp
研究テーマ：固形医薬品の物性についての定量的評価法に関する研究
趣味：音楽鑑賞