

解 説

熱分析による医薬品の安定性予測

上田洋一, 岡本昌彦, 大神泰孝, 中井 清

(受取日: 2004年5月27日, 受理日: 2004年8月10日)

Stability Prediction of Drug Substances using Thermal Analysis

Youichi Ueda, Masahiko Okamoto, Yasutaka Ohgami, and Kiyoshi Nakai

(Received May 27, 2004; Accepted August 10, 2004)

A stability test is one of the tests which are required the longest time in a development of a drug. For quick release of new drugs to the market, it is indispensable to estimate stability speedily from exact information in preliminary stability tests, and to minimize idle time at an early developmental stage. However, it is technically difficult to predict exactly in a short time before a stability test, what decomposition will occur.

We developed a new stability prediction method using thermal analysis to solve the problem. This method is very speedy; it only takes two weeks to predict stability of a drug substance in detail. The operations are simple; mainly thermal analysis and liquid chromatography. The method is performed by minimum 1 mg per measurement. And total amount of sample being necessary to predict stability is approximately 20 mg. The sample quantity is so little that the method can be used even at an early developmental stage when production scale is small. Furthermore, the accuracy and the precision of prediction using the method are equivalent to or better than those of 6-month preliminary stability tests. This method is very widely applicable to chemical materials including pharmaceutical raw materials, pharmaceutical intermediates, agricultural chemicals, and pesticides.

1. はじめに

医薬品の外箱に使用期限が印刷されている。これは経験的な証拠に基づいて医薬品の有効性と安全性を保証できる期間を示しており、患者と医師等医療関係者に安心を提供している。この1行ではあるが人への安全性に重要な情報を表示するため、医薬品メーカーは以下のように多大な時間と労力を費やしている。

薬理試験等の探索研究により、薬効を有する医薬品候補化合物が見つかり、医薬品の開発が始まる。最初にその合成法と品質評価方法の検討が行われる。品質評価方法は、有効性と安全性の評価に用いる医薬品の品質を

保証するために、開発初期から必要であり、作成された後も最新技術を取り込みながら常に改良が加えられる。いわば医薬品メーカーが多大な資金を投入して作成した専用の品質評価方法である。その中でも重要な類縁物質試験法ができると、保存条件や分解経路の探索を目的として予備安定性試験が開始される。

製造された開発化合物は、分解速度に差はあっても製造直後から劣化する。よって、安定に保存できる条件の探索は、開発化合物の品質維持、さらにその安全性評価に不可欠である。予備安定性試験は、保存条件が見つかるまで多種多様な条件で繰り返し行われ、数年以上かかることもある。

保存条件が見つかり、開発段階から上市後も一貫した品質であることを保証するために、最終製品である医薬品製剤及び有効成分（以下、原薬）の安定性試験が行われる。安定性試験には、長期保存試験、加速試験、苛酷試験があり、日米EU医薬品規制調和国際会議（International Conference on Harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use, ICH）での合意に基づいて各国で定められた安定性試験ガイドライン等の通知¹⁻⁶⁾に従って実施することが承認申請の必須要件となっている。長期保存試験は医薬品の使用期限を設定するための試験であり、医薬品開発において最も長い期間を要する試験の一つである。よって、安定性試験終了まで安定であればよいが、予備安定性試験の検討が不十分で予測以上に分解した場合には、医薬品の寿命ともいべき使用期限を短くするか、あるいは上市を遅らせても保存条件・処方・包装等を検討し直して再度安定性試験を行うか、医薬品メーカーとしては苦渋の選択を迫られることになる。

上述のリスクを回避し、より良い医薬品を早期に上市するためには、多くの正確な情報をもとにして効率的に保存条件を設定することが必要である。しかし、長期間の保存中に起こる各種分解を安定性試験前の短期間で正確に把握し、長期間の安定性を保証するには技術的に難しい問題が多く、安定性に関する試験は開発期間短縮の律速となっているのが現状である。

本稿では、幾つかの安定性予測法を紹介すると共に、熱分析を用いる微量、迅速、簡便、正確・高精度な新しい安定性予測法⁷⁾について、原薬の解析事例をもとに報告する。

2. 既存の方法

2.1 予備安定性試験

室温よりも高い温度と湿度で実際に保存し、劣化させた医薬品を分析する。薬効成分、不純物または分解物は、専用の液体クロマトグラフ法やガスクロマトグラフ法などで定量するため、結果の精度・正確さは共に良好である場合が多い。しかし、数ヶ月以上の期間を必要とし、評価にかかる時間が長いという欠点が挙げられる。各種条件を変えて、試行錯誤しながら保存条件を探すとなると数年以上になることもある。

2.2 微量熱量計を用いた安定性予測法

医薬品の長期安定性を正確に短期間で予測するための一つの手法として、微量熱量計を用いた反応速度論的解析が挙げられる。⁸⁾ 本法は物理的または化学的な変化に伴うエンタルピーの変化を測定しているため、何らかの変

化があれば熱量として捕らえることができる。医薬品の安定性評価への適用例も多数報告されている。⁹⁻¹³⁾

しかし、本法で解析できるか否かは測定に用いる容器の大きさ（試料量）と装置の感度および分解に伴うエンタルピーの変化量の大きさに依存するため、適用困難な医薬品も多い。nW オーダーの検出感度を有する熱量計を設置する施設の管理も大掛かりになる。更なる装置の感度向上に加え、使い易さにも期待するところである。

2.3 発生ガス分析法による安定性予測法

電気絶縁材料の長期安定性を短時間で評価する方法として、発生ガス分析法による安定性予測法が検討された。¹⁴⁾ 本法は、高分子が酸化した際に発生する二酸化炭素の量から解析するもので、装置としてはGC-FID（GC カラム中に試料を充填し劣化させる）、FT/IR（専用の劣化炉とFT/IRを接続）、TG-MS（TGで試料を分解し、MSで検出）が使われている。

参考となる技術も多いが、グラムオーダーの試料が必要であり、分解ガスの発生が前提となるため、医薬品への適用に関しては剤が限定され実用的ではない。

2.4 分子運動性に基づく安定性予測

固体状態の医薬品には、より高い製剤機能を期待して有効成分や添加剤が非晶質状態で設計されるものがある。これら非晶質医薬品の分子運動性をDSC、NMR等の方法で測定し、それに基づいて安定性を予測する試みが行われている。¹⁵⁾ 医薬品が保存中に引き起こす化学的分解は反応の活性化エネルギーに支配されるが、分子の運動性にも大きく支配される。塩酸キナプリルの非晶質は経時的に分子内で環を形成して分解するが、その反応速度は分子運動性と相関することが示されている。¹⁶⁾

このように医薬品の化学的分解は分子運動性と密接に関連しているが、化学反応は分子運動性以外にも多くの要因によって支配されることから、汎用性に関しては今後の研究成果を待たざるを得ない。

3. 熱分析装置を用いる新規手法

本法は、熱分析装置等を用いて試料を分解するとともに試料の温度を測定するステップと、目的成分の残存率を定量するステップと、残存率、試料の保温時間および温度にもとづき反応速度論的解析を行い、所望の条件下における目的成分の残存率を求めるステップを含むことを特徴とする。

原薬の解析において使用した熱分析装置は、Fig.1のように加熱炉の試料室直前に雰囲気ガス導入口を追加した雰囲気制御型の示差熱天秤¹⁷⁾を用いた。この雰囲気ガス

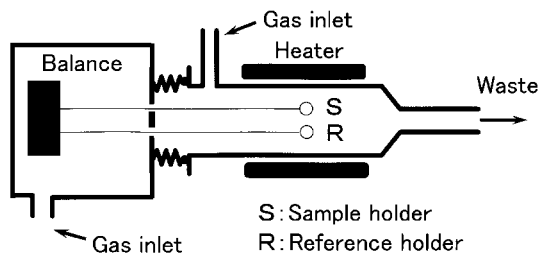


Fig.1 Schematic view of the TG/DTA (from upper side) using for a stability prediction. The atmosphere gas inlet is attached to the furnace tube. The humidified atmosphere gas can flow in the furnace tube by heating the path.

流路を保温することにより加湿ガスを導入できるように更に改造を加えている。¹⁸⁾

4. 熱分析装置で分解する利点

熱分析装置（示差熱天秤）を用いる利点は、第1に、反応場の温度（試料温度）を測定できることである。恒温恒湿器のように庫内の温度を代用する場合と異なり、反応速度論的解析における誤差がなく、正確な予測が可能である。

第2に、分解要因の特定と分解要因別の反応速度論的解析ができることである。窒素雰囲気では熱分解、酸素雰囲気では酸化分解、加湿窒素雰囲気では加水分解というように分解要因別に解析ができる。これにより、各分解要因がどの程度分解に関与しているのかがわかり、効果的な分解対策をとることができる。

第3に、分解挙動をリアルタイムで観測し、これを記録できることである。熱分析装置では、酸化分解、加水分解、熱分解のほか、融解、相転移などに伴う吸発熱や重量変化を観測できるため、分解途中に反応機構が変わった場合にその情報を得ることが可能である。

5. 解析上限温度

室温における安定性を予測するためには、室温付近で起こる分解が反映される上限温度を明らかにし、この温度以下で反応速度論的解析を行うことが必要である。分解温度が高いほど反応速度は速くなるため、分解時間を短縮できるが、高温では脱水反応や燃焼のように室温付近では起こり難い反応が主となることがあるためである。

Fig.2は、熱分析装置を用いて酸素雰囲気下でビタミンD誘導体を階段状に昇温した場合の吸・発熱と重量変化を示している。30℃から80℃までは重量変化、吸・発熱

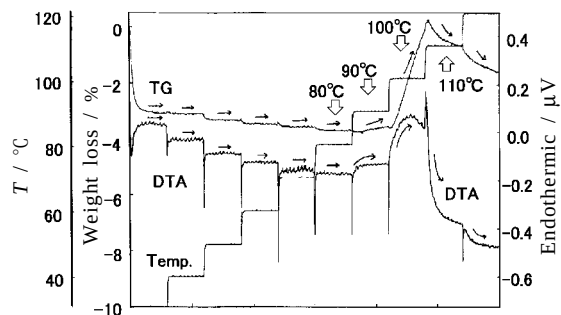


Fig.2 TG/DTA and temperature data of a vitamin D derivative in atmosphere of oxygen gas. Store the sample for 2 hours at each 10 degrees rise in temperature. The change of TG or DTA data did not appear at each temperature under 80°C. The response in weight by heat generation appeared at 90°C.

Table 1 Types of decomposition in various atmosphere.

Atmosphere Gas	Decomposition
Nitrogen	Pyrolysis
Oxygen	Pyrolysis + Oxidation
Humidified nitrogen	Pyrolysis + Hydrolysis

ともに有意な変化は認められない。90℃では酸化と思われる発熱を伴う重量増加の傾向が見られ、100℃ではこれが顕著に認められる。更に、110℃では脱水と思われる吸熱を伴う重量減少が観測されている。このことから、酸素雰囲気下では室温付近での分解を反映する上限温度は、80℃であろうことを容易に推定することができる。

6. 分解要因の探索

医薬品の場合に考慮すべき主な分解要因は、熱、水、酸素及び光である。これらが混在している条件で分解させた場合、何によって分解が起こっているのかを判別するのが困難となり、分解物の構造解析など更なる解析が必要になることが多い。熱分析装置を用いる方法では、**Table 1**に示した方法で、熱、水、酸素の分解要因別に解析することにより、それぞれの分解への寄与を定量的に把握することが可能である。

Fig.3は、熱分析装置を用いて分解したビタミンD誘導体の液体クロマトグラムである。酸素雰囲気下で分解すると溶出時間約25分までに多数の分解物が認められるが、

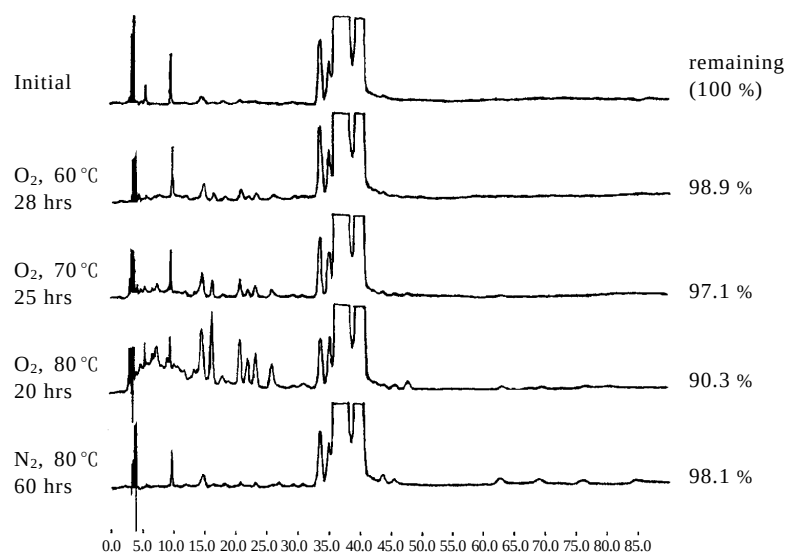


Fig.3 The liquid chromatograms of a vitamin D derivative.

窒素雰囲気下で分解したものには殆ど見られない。このように各種雰囲気下で解析することによって分解要因を明らかにし、分解要因別の反応速度論的解析を行うことができる。

光分解には、直接光を吸収して起こる光反応による分解（直接光分解）と、共存する物質の影響により、その物質自体が光を吸収しなくても起こる分解（間接光分解）があり、後者の代表例は酸化である。直接光分解は、“光化学反応は反応物質が光を吸収して初めて引き起こされる”という光化学第一法則に則って起こる。自然太陽光はオゾン層により290 nm以下の光が吸収されるため、自然環境中における直接光分解は290 nm以上にUV吸収を持つものに限られる。長波長の可視光はエネルギーが低いため、一般に地表で化学反応を起こすと考えられる光は、290～450 nmの波長領域のものである。吸収の強さについては、EUのガイドライン¹⁹⁾に一つの基準を見出すことができる。よって、紫外可視吸収スペクトルを測定することにより、光分解を検討すべきか否かの判断が容易にできる。さらに光分解する場合には、遮光容器または包装によって、容易に分解要因を除くことが可能である。間接光分解は、光により分解が加速されるが、分解要因は光以外のものであり、前述のTable 1の方法により探索することができる。

7. 反応速度式

分解要因と解析上限温度が分かると室温付近で起こる分解の反応速度論的解析が可能になる。反応速度式は、

一定温度条件下において分解時間の異なる分解試料を複数調製し、その分解率を定量することにより求める。分解は熱分析装置を用いて行う。定量は、医薬品の品質評価に用いられるクロマトグラフ法などの正確・高精度な方法を用いる。

反応速度式 $k t = f(\alpha)$ [式中、 k は反応速度定数、 t は分解時間を表し、 $f(\alpha)$ は分解率 α の関数] には、 n 次反応速度式 (n は、0 以上の実数)、Jander の式、Weibull の式、拡散律速の式、Avrami の式、Prout-Tompkins の速度式、Bawn の速度式、Leeson-Mattocks の速度式、Carstensen の式その他、Kawakita の式などがあり^{20,21)} 分解時間 t に対して $f(\alpha)$ をプロットし、原点を通る直線が得られる式を選択する。この場合の回帰直線の傾きが反応速度定数 k である。現在知られている反応速度式を表計算ソフト等で組んでおくことにより、あらゆる可能性の反応速度式を瞬時に検討することが可能である。

8. Arrhenius 式

Fig.4 は、反応速度定数 k と反応場の温度 T (試料温度) との直線関係を示した Arrhenius-plot であり、回帰直線式が Arrhenius 式に相当する。高温では分解反応が早く進行するため、短時間の分解で Arrhenius 式を求めることができる。これを低温側に外挿し、室温での反応速度定数を求めることによって、安定性試験開始前の短期間で最長3年間にも及ぶ安定性を予測するのである。

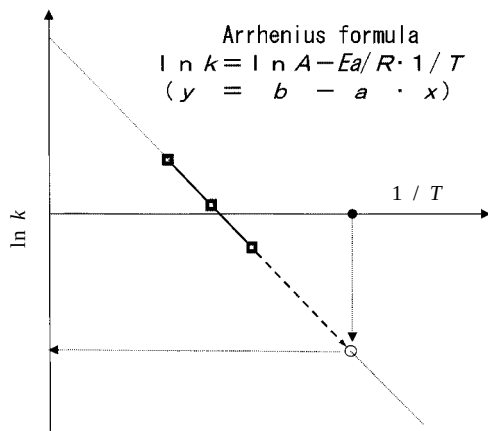


Fig.4 The principle of the stability prediction by chemical kinetics. Arrhenius formula is calculated from results of accelerated conditions at high temperature. Arrhenius plot is put outside to a low temperature side, and the decomposition velocity at low temperature is predicted. k : velocity constant. A : frequency factor. E_a : activation energy. R : gas constant. T : absolute temperature.

9. 方法の検証

9.1 分解の再現性

抗生物質原薬を窒素雰囲気下で分解し、熱分析装置による分解の再現性を検証した。分解条件は、本品の熱分解における解析上限温度（110℃）30分および100℃45分とし、繰り返し3回行った。残存率は本品の品質評価方法である液体クロマトグラフ法（絶対検量線法）で定量した。

結果をTable 2に示す。両条件共に液体クロマトグラフ法で通常期待される併行精度と同等の相対標準偏差が得られており、分解の再現性は良好であることがわかる。実験日が異なることにより気温等の影響で分解温度に若干の差が生じ、残存率にも影響しているが、熱分析装置により試料温度を正確に測定できているために前述のとおりArrhenius-plotでの誤差が大きくなることはない。

9.2 熱分析による安定性予測法の精度

抗生物質原薬を窒素雰囲気下で分解し、熱分解の反応速度論的解析を行った。6温度19点（60℃3点、70℃3点、80℃3点、90℃4点、100℃3点、110℃3点）の回帰直線をFig.5に示した。3年後の残存率が99.99%になる保存温度を求めた結果、解析温度範囲（60℃～110℃）

Table 2 Reproducibility of the Pyrolysis with TG/DTA.

Time/min.	Temp./℃	Remaining ^{a)} /%	RSD/%
45	101.2	93.8	0.5
	101.3	94.6	
	100.7 ^{b)}	93.9	
30	111.7	88.7	1.3
	111.6	88.3	
	112.8 ^{b)}	86.6	

a) Results analyzed with liquid chromatography.

b) Experiments on other day.

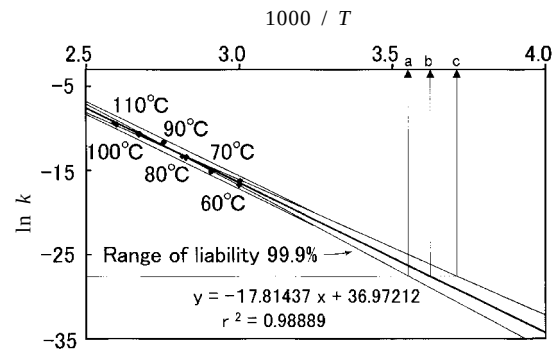


Fig.5 Arrhenius plot of pyrolysis on drug substance of antibiotic. The approximation line is calculated by the least-squares method based on the data of nineteen points from six temperatures. a = 8℃, b = 3℃, c = -3℃.

を低温側に2.6:1.6に外分した点で読みとれ、信頼限界99.9%では-3℃～8℃であることがわかった。保存温度の予測精度としては、3℃±6℃であり、3℃で保存した場合の3年後の残存率に換算すると99.96%～100.00%に相当する。

9.3 熱分析による安定性予測法の正確さ

予測値の正確さを確認するために、抗生物質原薬のロットAおよびロットBについて熱分析による安定性予測を行った。

各種雰囲気下で分解させたところ、加水分解することがわかったため、加湿窒素雰囲気下で反応速度論的解析を行った。Fig.6は、ロットAのArrhenius-plotである。回帰直線上に5℃で実施した安定性試験の結果がのってい

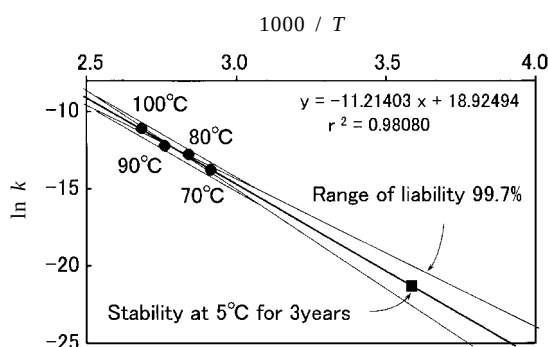


Fig.6 Arrhenius plot of hydrolysis on drug substance of antibiotic (Lot. A). They were decomposed in atmosphere of humidified nitrogen gas from 70°C to 100°C. The result was placed on Arrhenius plot, which performed a stability test at 5°C for three years.

ることがわかる。更に、反応速度論的解析の結果から、5°Cで3年間保存した場合の残存率を予測し、安定性試験の結果と比較したところ、ロットAは予測値97.06%に対して安定性試験結果97.85%であり、ロットBは予測値95.37%に対して安定性試験結果94.43%であった。どちらのロットも実際の安定性試験結果と一致する値が得られており、本法は高い正確さを有することがわかる。

10. おわりに

熱分析による安定性予測法は、分解から計算までの解析に要する期間が約2週間であり、従来6箇月間を要した予備試験と同等以上の正確さ・精度で予測することができる。操作は、主に熱分析とクロマトグラフ分析と簡便である。1測定当たり最少1mgで行えるよう設計したこともあり、安定性を予測するまでに要する試料量は、約20mgと微量である。よって、製造量が少ない開発初期からでも適用することができる。

本法は、当初、原薬を解析対象として開発した方法であるが、医薬中間体や原料、更には農薬、防疫薬にも適用できる高い汎用性を有する。安定性試験のオプションとして、希望する期間安定に保存できる条件を試験委託者に提案するといった利用も考えられる。

文 献

- 1) 医薬審発第0603001号医薬局審査管理課長通知「安定性試験ガイドラインの改定について」(平成15年6月3日)。
- 2) 薬審第422号薬務局審査課長通知「新原薬及び新製剤

の光安定性試験ガイドラインについて」(平成9年5月28日)。

- 3) 薬審第425号薬務局審査課長通知「新投与経路医薬品等の安定性試験成績の取扱いに関するガイドラインについて」(平成9年5月28日)。
- 4) 医薬審発第0731004号医薬局審査管理課長通知「原薬及び製剤の安定性試験へのブラケット法及びマトリキシング法の適用について」(平成14年7月31日)。
- 5) 医薬審発第0603004号医薬局審査管理課長通知「安定性データの評価に関するガイドラインについて」(平成15年6月3日)。
- 6) 医薬審発第0603007号医薬局審査管理課長通知「気候区域III及びIVにおける承認申請のための安定性試験成績に関するガイドラインについて」(平成15年6月3日)。
- 7) 上田洋一, 特許3322242。
- 8) L. Hansen, E. Lewis, D. Eatough, R. Bergstrom, and D. DeGraft-Johnson, *Pharm. Res.* **6**, 20 (1989)。
- 9) Thermo Metric, APPLICATION NOTE, 335 (1983)。
- 10) Thermo Metric, APPLICATION NOTE, 22004 (1990)。
- 11) Thermo Metric, APPLICATION NOTE, 22005 (1990)。
- 12) M. Angberg, C. Nystrom, and S. Castensson, *Int. J. Pharm* **73**, 209 (1991)。
- 13) M. Angberg, C. Nystrom, and S. Castensson, *Int. J. Pharm* **77**, 269 (1991)。
- 14) 絶縁材料熱安定性の短時間評価法調査専門委員会, 電学技報, 529 (1995)。
- 15) 吉岡澄江, *ファルマシア* **39**, 225 (2003)。
- 16) Y. Guo, S. Byrn, and G. Zograf, *J. Pharm. Sci.* **89**, 128 (2000)。
- 17) 美濃部正夫, 白神 昇, 特許3113998。
- 18) 中村信隆, 木下良一, 特許3084472。
- 19) EU Commission Directive 94/37/EC amending Council Directive 91/414/EEC Annex I, 2.9.2 (1994)。
- 20) N. Okusa, *Chem. Pharm. Bull* **23**, 794 (1975)。
- 21) 日本化学会, 化学総説 9 固体に関与する無機反応論, 学会出版センター (1975)。

要 旨

医薬品の安定性試験は、医薬品開発の中で最も長期間を要する試験の一つである。より良い医薬品を早期に上市するためには、その予備安定性試験を効率化し、より

多くの精確な情報を基に保存条件を設定することが必要である。しかし、長期間の保存中に起こる各種分解を試験前の短期間で正確に把握し、安定性を確保するには技術的に難しい問題が多い。

我々は、その解決策として熱分析による新しい安定性予測法を開発した。本法は、分解から計算までの解析に要する期間が約2週間であり、迅速である。操作は、主に熱分析とクロマトグラフ分析であり、簡便である。1測定当たり最少1 mgで行え、安定性を予測するまでに要する試料量は約20 mgである。微量で解析できるため、製造量が少ない開発初期からでも適用することができる。さらに従来6箇月間を要した予備試験と同等以上の正確さ・精度で予測することができる。本法は医薬中間体、原料、農薬および防疫薬にも適用できる高い汎用性を有する。



上田 洋一 Youichi Ueda
(株)住化分析センター大阪事業所,
Osaka Lab., Sumika Chemical
Analytical Service, Ltd., 現:住友化学
工業(株)有機合成研究所, Organic
Synthesis Research Lab., Sumitomo
Chemical Co.,Ltd., TEL. 06-6466-5172,
FAX. 06-6466-5459, e-mail: ueday7@
sc.sumitomo-chem.co.jp
研究テーマ: 医薬品の分析物性研究
趣味: 散歩, 将棋



岡本 昌彦 Masahiko Okamoto
住友化学工業(株)有機合成研究所,
Organic Synthesis Research Lab.,
Sumitomo Chemical Co., Ltd., TEL. 06-
6466-5405, FAX. 06-6466-5459, e-mail:
okamotom@sc.sumitomo-chem.co.jp
研究テーマ: 化学物質の相互作用・機能
の解析
趣味: 葡萄酒鑑賞



大神 泰孝 Yasutaka Ohgami
住友化学工業(株)有機合成研究所,
Organic Synthesis Research Lab.,
Sumitomo Chemical Co., Ltd. TEL. 06-
6466-5172, FAX. 06-6466-5459, e-mail:
ohgamiy@sc.sumitomo-chem.co.jp
研究テーマ: 医薬品の分析物性研究
趣味: 男の手料理



中井 清 Kiyoshi Nakai
住友化学工業(株)有機合成研究所,
Organic Synthesis Research Lab.,
Sumitomo Chemical Co.,Ltd., 現:(株)
住化分析センター大阪事業所, Osaka
Lab., Sumika Chemical Analytical
Service, Ltd., TEL. 06-6466-5247, FAX.
06-6466-5493, e-mail: k.nakai@scas.co.
jp
研究テーマ: 農医薬の分析物性研究
趣味: 海釣