

解 説

## 熱測定による医薬品原薬の結晶化傾向評価

川上 亘作

物質・材料研究機構 国際ナノアーキテクトニクス研究拠点

(受取日：2018年11月8日，受理日：2018年12月27日)

### Assessment of Crystallization Tendency of Pharmaceutical Glasses Using Thermal Analysis

Kohsaku Kawakami

World Premier International Research Center for Materials Nanoarchitectonics  
(WPI-MANA), National Institute for Materials Science

(Received Nov. 8, 2018; Accepted Dec. 27, 2018)

Amorphous solid dispersion is an important formulation technology to improve oral absorption of poorly soluble drugs, where crystallization tendency of the active pharmaceutical ingredient (API) must be comprehended well. Crystallization tendency of API can be estimated by observing crystallization during cooling/reheating of the melt. Though the crystallization during cooling/reheating cannot be directly correlated with crystallization tendency during isothermal storage, which is of great interest in pharmaceutical industry, it provides many insights regarding crystallization mechanism. Initiation time for isothermal crystallization can be explained only by a ratio of glass transition and storage temperatures under well-defined conditions, where knowledge on crystallization tendency is important for expecting other influential factors such as surface area. In this article, assessment of crystallization tendency of pharmaceutical glasses and its relevance to pharmaceutical developmental study is introduced.

Keywords: Pharmaceutical glass, Crystallization, Nucleation, Physical stability, Stabilization

#### 1. はじめに

医薬品開発現場においては、候補化合物の水への低溶解性が開発の障害となることが多い。それを克服する有力な手段のひとつとして、非晶質状態が利用される。<sup>1,2)</sup> 非晶質は結晶よりも溶解性に優れるため、消化管内で過飽和状態を創り出し、難水溶性化合物の経口吸収性を効果的に改善する。その効果を享受するためには、保存中に医薬品化合物が結晶化してはいけない。つまり非晶質を製剤技術として利用するためには、その状態を年単位で安定に保存する技術が必要となる。

非晶質製剤の設計にあたっては、まず候補化合物そのものの結晶化のしやすさ、すなわち結晶化傾向を把握しなければならない。結晶化傾向(逆の観点から「ガラス形成能」とも呼ばれる)は、DSCで熔融状態から急冷し、その間の結晶化挙動から判断されることが多い。<sup>3,4)</sup> 結晶化傾向が低い、すなわち非晶質状態を安定に保持しやすい有機化合物は **Table 1** に示す特徴を有する。まず化学構造に注目すると、分子量が大きくて複雑な構造を持ち、構造の自由度が大きく、強い分子間相互作用を持つ化合物ほど結晶化しにくい傾向にある。一方、化合物の熱力学物性と結晶化傾向の間にも一定の関係性が認められ、それらも **Table 1** にまとめた。ここでも分子間相互作用の強さを反映するパラメータが多く挙げられている。

**Table 1** Characteristics of Compounds with Low Crystallization Tendency.

化学構造の特徴	物性の特徴
✓分子量が大きい	✓融解エンタルピーが大きい
✓ベンゼン環が少ない	✓融解エントロピーが大きい
✓分子対称性が低い	✓融点が高い
✓回転可能な結合が多い	✓結晶/非晶質のエネルギー差が大きい
✓分岐が多い	✓フラジリティが大きい
✓電気陰性原子が多い	✓ $T_g/T_m$ 比が大きい
✓分子間相互作用が強い	✓過冷却液体状態の粘度が高い
	✓分子運動性が低い

$T_g$ : ガラス転移温度,  $T_m$ : 融点

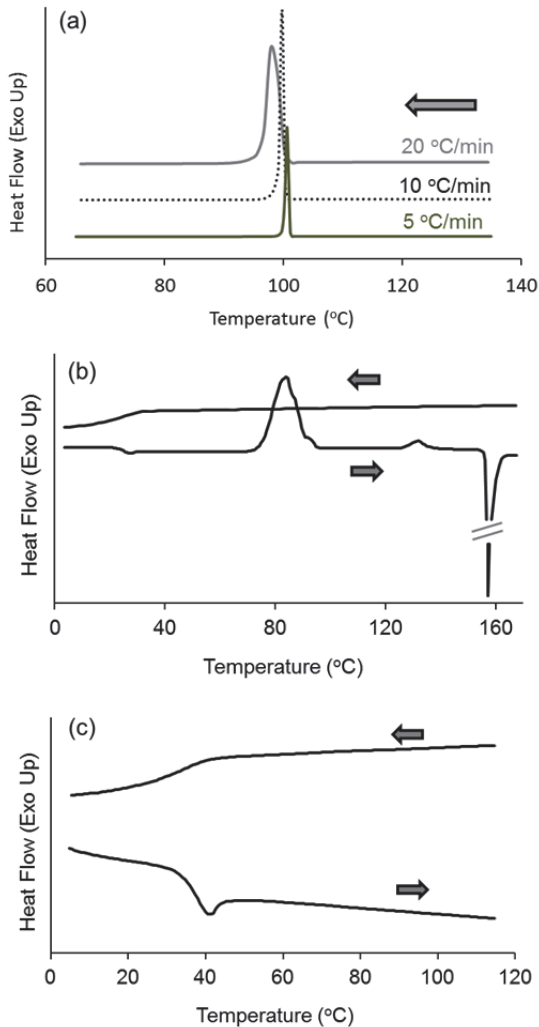
もっとも多く研究における結晶化傾向の判断は、熔融状態から冷却したときの結晶化挙動に基づいており、これは非晶質医薬品の保存安定性に関わる等温結晶化とは似て非なる現象である。冷却過程における結晶化は、自由体積が減少、分子運動性が低下する過程で起こる結晶化であるのに対し、等温結晶化においては初めから強い分子間相互作用が存在し、その状態からの構造変化には比較的大きな

エネルギー障壁が存在する。つまり冷却過程における結晶化傾向が高くても、必ずしも保存安定性が低いわけではなく、任意温度における結晶化傾向を決めるのはむしろガラス転移温度 ( $T_g$ ) である。以下、医薬品化合物の結晶化傾向の評価法と、その解釈について解説する。

## 2. 溶融状態からの冷却過程における結晶化傾向

DSC 装置内で融点以上まで昇温して融解させ、冷却中に結晶化するかどうか、およびその結晶化温度から結晶化傾向を判断するという手法は、医薬品分野に限らず物理学分野などでも広く利用されている。医薬品分野においては、2010年に Taylor らが提案したクラス分けの手法<sup>3)</sup>が最も広く認知されており、その内容は以下の通りである。

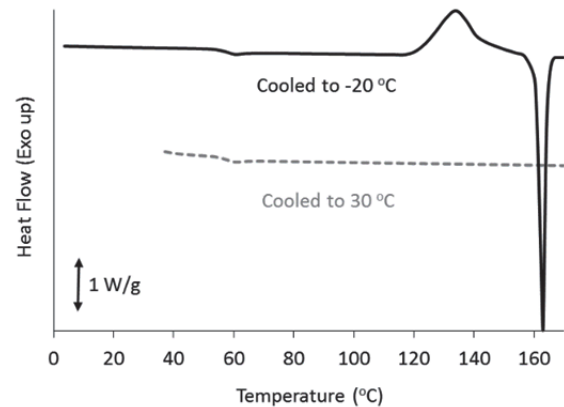
クラス 1：溶融状態からの冷却過程 (20 °C/min) において結晶化が観察される化合物  
 クラス 2：上記冷却過程では結晶化は観察されないが、再昇温すると結晶化が観察される化合物  
 クラス 3：上記冷却・再昇温過程においては結晶化が観察されない化合物



**Fig.1** (a) DSC cooling curves of haloperidol from the melt. The cooling rates are presented in the figure. (b) DSC cooling and reheating curve (10 °C/min) of acetaminophen from the melt. (c) DSC cooling and reheating curve (10 °C/min) of loratadine from the melt.

各々の代表例を Fig.1 に示す。ハロペリドールは冷却中に必ず 100 °C 付近で結晶化するクラス 1 化合物である。アセトアミノフェンは冷却過程においては結晶化しないが、再昇温過程で結晶化するため、クラス 2 化合物に分類される。ロラタジンは冷却・再昇温過程において結晶化しない、クラス 3 化合物である。このクラス分け手法は、操作・解釈ともに極めて単純であるが、それ故に誤用されることも多い。まず、本クラス分けで等温結晶化の容易さを直接判断できるわけではないことは既述の通りである。また試料の履歴によって、次に示す通り結晶化挙動が影響を受けることがある。

クラス 1 化合物とクラス 2 化合物の違いは、至適核生成温度と結晶成長温度の乖離の度合いにあると解釈できる。すなわち、クラス 1 化合物の各過程の至適温度は比較的近く、そのため冷却過程において両方が同時進行して結晶化するのに対し、クラス 2 化合物の至適核生成温度は結晶成長温度よりも十分に低いため、いちど核生成を誘発するための低温状態を経験しなければ、結晶化は起こりにくい。Fig.2 は、セレコキシブを溶融状態から 30 °C まで冷却して再昇温した時と、-20 °C まで冷却して再昇温したときの DSC 曲線の比較であるが、後者でのみ昇温過程で結晶化が観察される。<sup>5)</sup> これはセレコキシブの至適核生成温度が氷点下であり、30 °C までの冷却では核生成が進行しないためである。

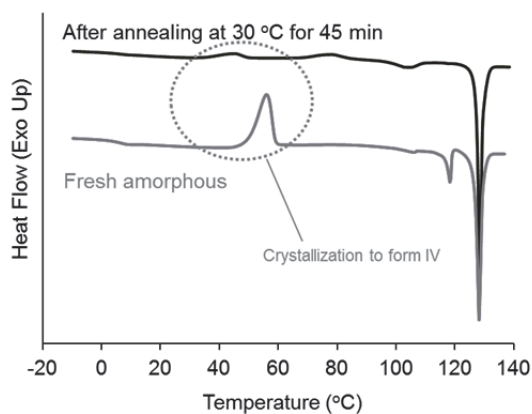


**Fig.2** DSC heating curves (10 °C/min) of celecoxib glass. Celecoxib was first melted above its melting temperature, followed by cooling at 20 °C/min to the temperature shown in the figure. Then, the quenched glass was heated from those temperatures.<sup>5)</sup>

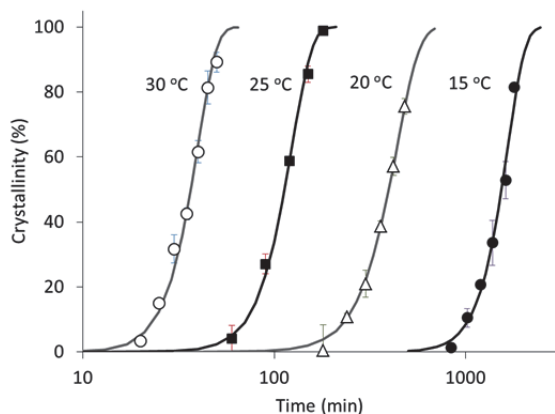
## 3. 結晶化傾向と等温結晶化の関係

等温結晶化には様々な因子が関与するため、結晶化速度に関する一般則を導くためには厳密に制御された条件で観察を行わなければならない。我々は DSC 内で溶融・急冷によって調製した非晶質を用い、それを DSC パンに入ったまま等温条件で保管することによって、9 種の医薬品化合物の等温結晶化過程を追跡した。<sup>6-8)</sup>

冷却中に簡単に結晶化するクラス 1 化合物においても、十分に速い冷却速度を与えれば非晶化が可能である。Fig.3 は、プログラム上 -50 °C/min で冷却して得た非晶質トルブタミドを再昇温したときの DSC 曲線と、冷却後 DSC 内で等温アニーリングを行ってから、再昇温した非晶質トルブタミドの DSC 曲線の比較である。<sup>9)</sup> 再昇温過程において非晶質トルブタミドは IV 型に結晶化し、さらに II 型に転移したのち融解する。このときの IV 型への結晶化エンタル



**Fig.3** DSC heating curves (10 °C/min) of freshly prepared and annealed tolbutamide glasses. The annealing was done at 30 °C for 45 min. The glasses were crystallized to form IV at ca. 40-50 °C. The crystallinity was calculated from the crystallization enthalpy.<sup>6)</sup>



**Fig.4** Evolution of crystallinity of tolbutamide glass during isothermal annealing as a function of time. The temperature conditions are shown in the figure. Avrami-Erofeev equation (Eq.(2)) was used for the fitting.<sup>6)</sup>

ピーを用いることで、次式より結晶化度  $X$  を求めることができる。<sup>6)</sup>

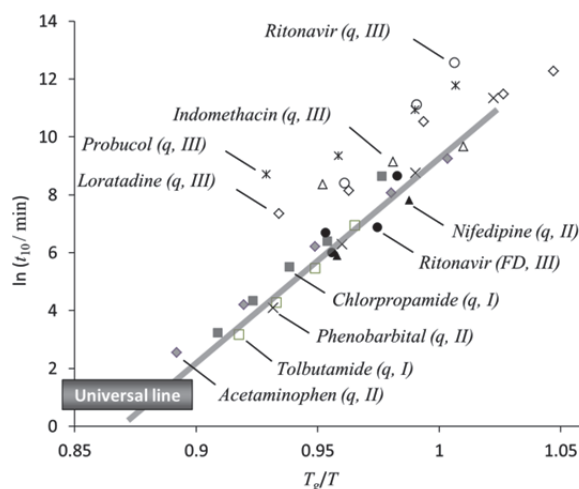
$$X(\%) = 100 \left\{ 1 - \Delta H / \left( \Delta H_q - \int_T^{T_q} \Delta C_p dT \right) \right\} \quad (1)$$

ここで  $\Delta H$  と  $\Delta H_q$  は等温保管後および調製直後の検体の結晶化エンタルピーである。 $T$  と  $T_q$  はそれらの結晶化温度であり、 $\Delta C_p$  は熱容量差である。アニーリング温度および時間を変えることによって、**Fig.4** に示す等温結晶化曲線が得られる。これを以下の Avrami-Erofeev 式でフィッティングすることによって、各結晶化パラメータが得られるが、その結果よりさらに結晶化度が 10 % に到達する時間  $t_{10}$  を、結晶化開始時間と定義する。<sup>6)</sup>

$$X(\%) = 100[1 - \exp\{-k(t - d)^n\}] \quad (2)$$

ここで  $k$  と  $d$  は結晶化速度定数と導入時間、 $n$  は Avrami 定数であり、核生成の均一性と結晶成長の次元が反映される。なお **Fig.3** のトルブタミドにおいては、後述の通り  $n$  はいずれの場合も 4 前後であり、均一核生成、3 次元成長に基づく結晶化であることが分かった。

クラス 2 化合物も昇温中に結晶化するため、結晶化エン



**Fig.5** Initiation time of crystallization ( $t_{10}$ ) as a function of  $T_g/T$ .  $q$  or  $FD$  represents that the glass was prepared by quenching or freeze-drying, respectively. The numbers indicate classification of the crystallization tendency. The universal line is the best fit for the class I and II compounds.

タルピーより結晶化度が計算できる。ただし結晶化ピークが融解ピークと重なると、本手法の適用は困難となる。それが該当するニフェジピンについては、結晶化に伴う比熱容量変化に由来するベースライン変化より結晶化度を求めた。<sup>6)</sup>

$$X(\%) = 100(W - W_a) / \Delta W \quad (3)$$

ここで  $W$  と  $W_a$  はアニーリング後、およびその後さらに溶融・急冷して得られた非晶質の熱流束であり、 $\Delta W$  は非晶質と結晶の熱流束差である。

クラス 3 化合物は昇温中に結晶化しないため、融解エンタルピーより結晶化度を求めた。例えばリトナビアの場合、溶融前は最安定形の II 型であるが、溶融検体を等温保管するとまず IV 型に結晶化することから、結晶化度は次式で求められる。

$$X(\%) = 100(H_m / H_{mi})(H_{m-II} / H_{m-IV}), \quad (4)$$

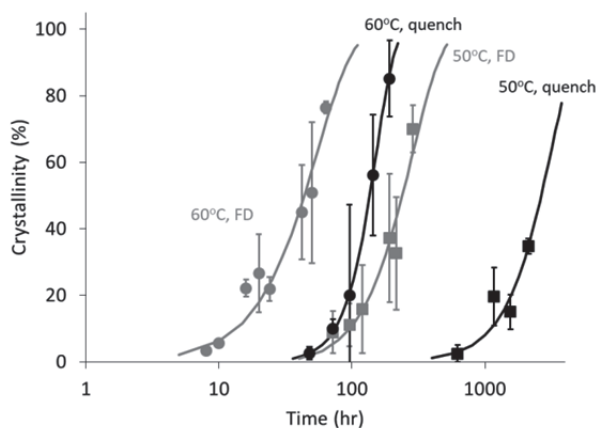
ここで  $H_m$ 、 $H_{mi}$ 、 $H_{m-II}$ 、 $H_{m-IV}$  はそれぞれ、等温保管後のサンプル、溶融前の結晶、II 型結晶、IV 型結晶の融解エンタルピーである。

**Fig.5** は、各化合物が等温条件で 10% 結晶化する時間  $t_{10}$  を、 $T_g/T$  の関数としてまとめたものである。<sup>6-8)</sup> 図に示す通り、クラス 1、2 化合物の結晶化開始時間は 1 本の直線 **Universal line** で説明でき、これらの化合物の結晶化を支配する因子が温度であることが分かる。クラス 3 化合物は分子間相互作用により安定化されるため、結晶化開始時間はこれらより遅くなる。**Universal line** の傾きより求められる活性化エネルギーは 500 kJ/mol 程度であり、これは結晶化挙動がほぼ温度（分子運動性）に支配されるとき値と解釈できる。

**Table 2** に、各化合物の Avrami 定数を示す。<sup>6)</sup> クラス 1 に属する 2 化合物の値は 4 付近であり、均一核生成・3 次元成長による結晶化が示唆される。クラスが大きくなるにつれて Avrami 定数は小さくなり、傾向として核生成が不均一になるものと解釈できる。つまりクラスが大きくなるほど結晶化に対するテンプレート効果が重要になるため、表面積の影響もより受けやすくなるものと思われる。

**Table 2** Avrami exponents for isothermal crystallization.<sup>6)</sup>

Classification	Compound	Avrami exponents
I	Tolbutamide	3.7–4.6
	Chlorpropamide	3.0–4.2
II	Acetaminophen	2.1–3.0
	Nifedipine	2.0
III	Ritonavir	2.2–3.1
	Indomethacin	1.0–2.6
	Loratadine	1.1–1.5
	Probucof	1.2–1.3

**Fig. 6** Comparison of crystallization curves of ritonavir glasses prepared by freeze drying (FD) or quenching. The temperature conditions are shown in the figure. Avrami-Erofeev equation (Eq. (2)) was used for the fitting.<sup>7)</sup>**Table 3** Crystallization parameters for ritonavir glasses prepared by FD or quenching.<sup>7)</sup>

	50 °C		60 °C	
	Quench	FD	Quench	FD
$k$ (min <sup>-1</sup> )	$3.99 \times 10^{-10}$	$6.29 \times 10^{-7}$	$2.51 \times 10^{-9}$	$2.70 \times 10^{-5}$
$n$	2.2	1.8	3.1	1.6
$t_{10}$ (min)	$6.72 \times 10^4$	$5.80 \times 10^3$	$4.47 \times 10^3$	811
Crystal form	IV	I	IV	I

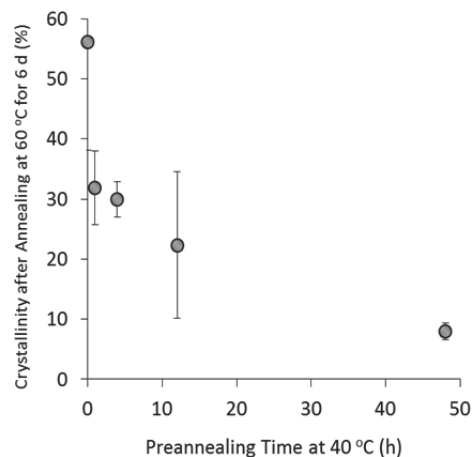
**Fig. 6** は、溶融・急冷によって調製した非晶質リトナビアと、凍結乾燥で調製したそれとの結晶化挙動の比較である。いずれの温度においても凍結乾燥検体の方が結晶化は速い。溶融検体と凍結乾燥検体の最も大きな違いは表面積であり、リトナビアはクラス 3 化合物であることから、表面積の増大によって結晶化が促進されたものと解釈できる。サンプル形状の結晶化挙動への影響は、フィッティングより得られた結晶化パラメータ (**Table 3**) にさらに鮮明に現れる。まずは、非晶質検体の調製法を変えることによって、結晶化後の結晶形が変わる。溶融法で得られた非晶質はまず IV 型に結晶化し、これはさらなる長期間の保存で I 型に変化するが、凍結乾燥検体は直接 I 型に結晶化している。いずれの温度でも速度定数は溶融検体の方が小さく、溶融検体のより密な構造に由来していると考えられる。Avrami 定数は溶融検体の方が大きく、これは凍結乾燥検体の多孔質構造が結晶成長を妨げるためと考えられた。凍結乾燥検体を用いて得られた  $t_{10}$  値も **Fig. 5** 中に示してあるが (加湿条件下のデータも含む)、これらは Universal line 上にあることが分かる。つまり溶融で調製した非晶質リトナビアの結晶

化には分子間相互作用が無視できず、それによって結晶化が遅延するが、凍結乾燥検体においては、密度が低いために近接分子の妨害による影響を受けにくいこと、さらに結晶化の起点 (表面) が多いことによって、結晶化挙動が温度に支配されるようになることが分かる。<sup>7)</sup>

以上の議論は原薬のみの 1 成分系の観察結果に基づいているが、実際の開発研究においては高分子化合物とともに製剤化を行い、安定性を改善することができる。そのためには、各成分を分子レベルで混合させる必要があり、相溶性評価も必要となる。<sup>9)</sup> 各成分が相溶している場合には、複数組成であっても  $T_g/T$  と結晶化開始時間の関係について **Fig. 5** の Universal line に一致する結果が報告されている。<sup>10)</sup>

#### 4. 熱処理による非晶質状態の安定化

クラス 1, 2 化合物の結晶化は温度で支配されるため、その安定化には添加剤の利用など組成変更が必要となる。一方でクラス 3 化合物の結晶化は非晶質状態に影響を受けるため、熱履歴の制御で安定化が可能と考えられる。**Fig. 7** に、60 °C における非晶質リトナビアの結晶化に対する、40 °C でのプレアニーリングの影響を示す。非晶質リトナビアを 60 °C で 6 日間保管すると、約 58 % が結晶化する。しかしながら、事前に  $T_g$  直下の 40 °C でのアニーリングを行うことによって結晶化は遅延し、2 日間のアニーリングを行った後では、60 °C で 6 日間保存後の結晶化度は僅か 8 % であった。40 °C におけるアニーリング中の構造変化を、粉末 X 線回折に基づく二体分布関数解析、および赤外分光分析より評価したところ、水素結合パターンの変化と自由体積の減少が認められた。ガラス転移温度以上を経験すると、一般にこのような熱履歴は消去されると考えられているが、40 °C における構造変化のうち、60 °C で 30 分アニーリングしても、構造変化は完全には消去されることが分かった。このような構造変化によって核生成に対する立体障害が大きくなり、安定化されたものと考えられる。<sup>11)</sup>

**Fig. 7** Effect of preannealing at 40 °C for crystallization of ritonavir glass at 60 °C.<sup>10)</sup>

#### 5. 結晶化クラスと結晶化挙動の関係

以上の通り、結晶化に関わる様々な性質が結晶化傾向のクラス分けに関連付けられることが分かる。それらをまとめると、**Table 4** の通りとなる。<sup>3)</sup> 溶融後に急冷、再昇温するという単純な観察で、その薬物の等温結晶化、すなわち物理的安定性について一定の知見を得ることができる。例



えば対象薬物がクラス3化合物の場合、結晶化挙動が表面積に敏感であることが予測できる。実際クラス3化合物であるインドメタシンは、その結晶化が粒子径に影響を受けることなどが頻繁に報告されている。<sup>12)</sup> 結晶傾向クラスに加え、さらに  $T_g$  情報を併せて考えることで、保存安定性の大まかな推測も可能となる。現状、非晶質状態で実用化された薬物はほとんどがクラス3化合物であるが、<sup>13)</sup> 結晶化傾向と等温結晶化挙動の関係を深く理解することで、非晶質技術の利用がさらに広がると期待される。

**Table 4** Relationship between crystallization tendency classification and glass properties.

With increase in the classification number,
✓ Nucleation becomes more heterogeneous
✓ Nucleation barrier becomes larger
✓ Surface effect becomes more important
✓ Stabilization becomes possible by thermal treatment
✓ The universal line in <b>Fig.5</b> is applicable for class I and II compounds. Class III compounds have higher stability.

## 6. おわりに

結晶化は非常に多くの因子に影響を受ける複雑な現象であるため、その挙動は一見化合物ごとに大きく異なる。しかしながら、表面積や吸湿など各因子の影響を丁寧に把握することによって、統一的な解釈が可能になってきたように思われる。非晶質医薬品の結晶化に関する研究は、ガラス科学の発展と医薬品開発の両方において重要な意味を持ち、ますますの進展が求められる。

## 文 献

- 1) K. Kawakami, *Adv. Drug Delivery Rev.* **64**, 480-495 (2012).
- 2) S. V. Jermain, C. Brough, and R. O. Williams III, *Int. J. Pharm.* **535**, 379-392 (2018).
- 3) J. A. Baird, B. van Eerdenbrugh, and L. S. Taylor, *J. Pharm. Sci.* **99**, 3787-3806 (2010).
- 4) K. Kawakami, *Exp. Opin. Drug Delivery* **14**, 735-743 (2017).
- 5) K. Kawakami, *Thermochim Acta* **671**, 43-47 (2019).
- 6) K. Kawakami, T. Harada, K. Miura, Y. Yoshihashi, E. Yonemochi, K. Terada, and H. Moriyama, *Mol. Pharmaceutics* **11**, 1835-1843 (2014).
- 7) K. Kawakami, *J. Pharm. Sci.* **104**, 276-279 (2015).
- 8) K. Kawakami and C. Ohba, *Int. J. Pharm.* **517**, 322-328 (2017).
- 9) K. Kawakami, Y. Bi, Y. Yoshihashi, K. Sugano, and K. Terada, *J. Drug Delivery Sci. Technol.* **46**, 197-206 (2018).
- 10) S. Greco, J. R. Authelin, C. Leveder, and A. Segalini, *Mol. Pharmaceutics* **29**, 2792-2805 (2012).
- 11) S. Tominaka, K. Kawakami, M. Fukushima, and A. Miyazaki, *Mol. Pharmaceutics* **14**, 264-273 (2017).
- 12) T. Wu and L. Yu L, *Pharm. Res.* **23**, 2350-2355 (2006).
- 13) N. Wyttenbach and M. Kuentz, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **112**, 204-208 (2017).



川上 亘作  
Kohsaku Kawakami  
E-mail: kawakami.kohsaku@nims.go.jp