

解 説

微量不純物の非晶質医薬品への影響の評価

浜田 義人

第一三共株式会社 CMC 企画部 CMC 第一グループ

(受取日：2018 年 11 月 12 日，受理日：2018 年 11 月 25 日)

Investigation of the Effect of Impurity on the Physical Properties of Amorphous Pharmaceuticals

Yoshito Hamada

CMC Planning Department, Daiichi Sankyo Co. Ltd.

(Received Nov. 12, 2018; Accepted Nov. 25, 2018)

The effects of structurally related organic impurities on the molecular dynamics of amorphous sulfamethazine were evaluated using thermal analysis. Sulfanilamide (SNA), sulfamerazine (SMR), and sulfadimethoxine (SDM) were used as virtual impurities of sulfamethazine. The amorphous state was prepared in situ in differential scanning calorimetry by quenching the melted physical mixtures of sulfamethazine and each impurity compound in the differential scanning calorimetry pan. In the following heating process, the glass transition temperatures (T_g) of each were measured. The fragility parameters were estimated from the width of T_g . The T_g of amorphous sulfamethazine with those impurities changed in accordance with the manner set forth in the Gordon-Taylor equation. The fragility parameter slightly increased when a small amount of SNA or SMR was incorporated. Moreover, the probability of a measurement in which crystallization of sulfamethazine was observed above its T_g , increased at a low concentration range of SNA, SMR, or SDM. It was considered that the existence of a small amount of impurity would induce heterogeneity in the molecular density of the amorphous state, which would be associated with the local fluctuation. It was suggested that the change in the molecular dynamics would be related to the probability of crystallization of sulfamethazine.

Keywords: amorphous, fragility, crystallization, molecular dynamics

1. はじめに

低分子医薬品の固体状態は、化学的安定性や吸湿性、溶解速度などの品質に影響を与えることが知られている。結晶性原薬では、粉碎や、錠剤製造工程の高速攪拌混合や、打錠工程などでその結晶性が低下することもあり、重要な物理的特性のひとつであると考えられる。¹⁻³⁾ 一方で、近年では難溶性化合物の経口吸収性を改善するために、原薬を意図的に非晶質として製剤化することがある。このとき、非晶質は熱力学的に不安定な状態であるため、非晶質状態の物理的安定性の確保が重要な課題であると認識されている。いずれの場合においても、原薬の結晶性や非晶質状態を厳密にコントロールすることが、高品質な医薬品を設計するうえで重要な課題と考えられる。⁴⁻⁶⁾

低分子医薬品は一般的に有機合成により製造される。そのため、完全な純物質であることは稀で、微量の不純物が含まれる。不純物としては、重金属、残留溶媒、水分、有機不純物などがある。このうち、有機不純物は合成プロセスにおける合成中間体や副生成物、及び化学分解物などに由来するため、目的化合物に対して構造類似性を有する。原薬の製造元や品質管理の違い、あるいは研究開発段階における合成プロセスの変更によって、原薬に含まれる不純物の種類やそれらの量、すなわち不純物プロファイルは、同一の化合物であってもロット間で変動することがある。医薬品の化学的安定性や溶解速度のロット間差は、特に研究開発段階や、原薬の製造元変更時にしばしば問題となり、原薬の不純物プロファイルの違いが一因であると推測されることがある。

Needham らはエストラジオールの放出持続性製剤において、非晶質エストラジオールの結晶化速度に不純物プロファイルの違いが影響している可能性を指摘している。⁷⁾ また、Yu らは、結晶化しやすいマンニトールのガラス転移温度を評価するのに異性体であるソルビトールを混入させることでマンニトールの結晶化を抑制することでそのガラス転移温度を求める研究を行っているが、⁸⁾ メカニズムに関しては考察されていない。さらに、抗 HIV 薬リトナビルでは、分解物の存在により、新規な結晶多形が出現したことも報告されている。⁹⁾ このような結晶化現象に対する不純物の影響についての報告はいくつか見られるものの、物理化学的性質に対する微量の不純物の影響に関する系統的な研究はほとんどなされていない。

医薬品化合物の物性に対する理解を深め、よりの確な製剤設計を構築するために、非晶質の物性に対する微量の不純物の影響を明らかにすることは、極めて重要な課題である。

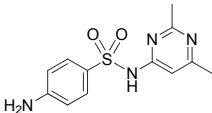
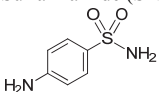
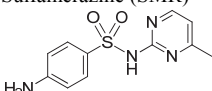
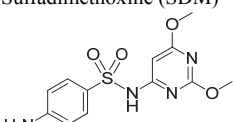
医薬品化合物の物性に対する理解を深め、よりの確な製剤設計を構築するために、非晶質の物性に対する微量の不純物の影響を明らかにすることは、極めて重要な課題である。

ると考えた。しかしながら、このような研究を実施するうえで、不純物の種類とその量を変化させた系統的な試料を入手、あるいは調整することは非常に困難であった。そこで筆者は、モデル化合物としてスルファメサジンを選定し、一般的に入手可能な構造類似化合物を仮想的な不純物として添加することによって任意の不純物組成を有する試料を調製し、物理化学的性質に対する影響を評価することを試みた。¹⁰⁾ 本稿では本研究の概要を解説する。

2. 実験

用いた試料を **Table 1** に示す。モデル化合物としてスルファメサジンを用いた。HPLC で分析した純度は 99.80 % であった。不純物としては、スルファニルアミド (SNA)、スルファメラジン (SMR)、及びスルファジメトキシシン (SDM) を用いた。これらは、あくまで構造類似性からの組み合わせであり、実際の有機合成過程で生じる副生成物や化学分解により発生する分解物の関係ではない。

Table 1 Compounds used in this study.

Compound	Molecular formula and molecular weight	Melting point	Heat of fusion
Sulfamethazine		C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₂ S 278.33	200 °C 122 J/g
Sulfanilamide (SNA)		C ₆ H ₈ N ₂ O ₂ S 172.20	167 °C 131 J/g
Sulfamerazine (SMR)		C ₁₁ H ₁₂ N ₄ O ₂ S 264.31	239 °C 149 J/g
Sulfadimethoxine (SDM)		C ₁₂ H ₁₄ N ₄ O ₄ S 310.33	205 °C 126 J/g

スルファメサジンと各不純物の物理混合末を、示差走査熱測定 (DSC) で融点以上に加熱し、20 °C/min の速度で冷却して非晶質とした。引き続き昇温過程の DSC プロファイルから、ガラス転移温度 (T_g)、フラジリティパラメーター、及び T_g 上でのスルファメサジンの結晶化の有無について評価した。フラジリティパラメーターは T_g の幅から算出した。

3. 二成分系相図とガラス転移温度

まず、スルファメサジンと各不純物とした化合物のそれぞれの二成分系相図を確認した。二成分系の融点は Schroder-van Laar の式(1)より計算し、結果の妥当性を確認した。

$$\ln x = \frac{\Delta H_0}{R} \left(\frac{1}{T_0} - \frac{1}{T} \right) \quad (1)$$

ここで、 x はモル分率、 ΔH 及び T_0 はそれぞれ融解熱と融点、 T は混合比 x のときの融点、 R は気体定数である。

Fig.1 に示すように、各相図からスルファメサジンと不純物とした各物質とはいずれも単純共晶系を示すことが確認された。また、物質の有機不純物の量としては一般的に 1 % 程度と考えられるが、このようなわずかな混入量では融点にはほとんど変化が無いことが確認された。

不純物量が 0.4 wt% から 30 wt% までの範囲で非晶質スルファメサジンの T_g に対する影響を評価した (**Fig.2**)。 T_g は各不純物量の増加に伴い、直線的な変化を示した。このガラス転移温度の挙動は、二成分系のガラス転移温度を表現する Gordon-Taylor 式 (2) に従うものと理解することが可能であった。

$$T_{g,mix} = \frac{[(w_1 T_{g1}) + (K w_2 T_{g2})]}{[w_1 + (K w_2)]} \quad (2)$$

ここで、 w_1 , w_2 は各成分の質量分率、 T_{g1} , T_{g2} は各成分のガラス転移温度、そして K は各成分の密度の比に関係した係数である。ここでは、各化合物間に密度の差はないと仮定して、 K は 1 とした。この外挿から不純物として用いた SNA, SMR, SDM のガラス転移温度はそれぞれ -3 °C, 67 °C, 88 °C と計算された。SMR については T_g が 62 °C との報告があり、¹¹⁻¹²⁾ この外挿による T_g の推算はおおよそ妥当であると考えられる。

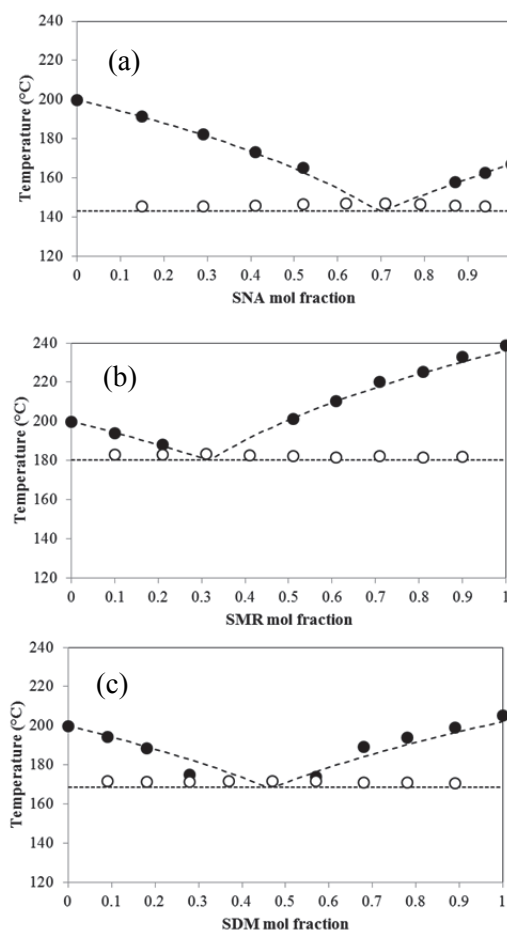


Fig.1 Binary phase diagrams of sulfamethazine and impurity compounds. (a) sulfamethazine and SNA, (b) sulfamethazine and SMR, and (c) sulfamethazine and SDM. Black and open symbols are the measured melting points and eutectic melting points, respectively. Dashed lines represent the calculated theoretical values.

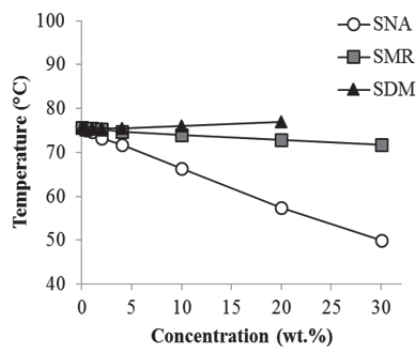


Fig.2 Variations of the glass transition temperatures of sulfamethazine with each sulfonamide impurity.

4. フラジリティパラメーター

熱分析によるフラジリティパラメーターの算出についてはいくつかの手法が報告されているが、¹³⁻¹⁵⁾ 本研究では、フラジリティパラメーターはガラス転移の幅から算出した。以下の式によりフラジリティパラメーター m を算出した。

$$\left(\frac{\Delta E}{R}\right) \left(\frac{1}{T_g^{\text{ons}}} - \frac{1}{T_g^{\text{off}}}\right) = \text{Constant} \quad (3)$$

$$m = \frac{\Delta E}{(\ln 10) R T_g} \quad (4)$$

ここで、 R は気体定数、 ΔE は活性化エネルギー、 T_g^{ons} 及び T_g^{off} は DSC ヒートフロー上のガラス転移のオンセット温度とオフセット温度である。Constant は物質に依存する値であるが、本研究では、この定数は 5 と固定し、得られた ΔE から式(4)よりフラジリティパラメーター m を算出した。

各不純物の量に対するフラジリティパラメーター m の変化を **Fig.3** に示す。不純物 SNA, SMR の系では、不純物量が 0.4 wt% から 2.0 wt% の範囲でフラジリティパラメーター m のわずかな増加が観察された。SDM の系ではこのような変化は認められなかった。

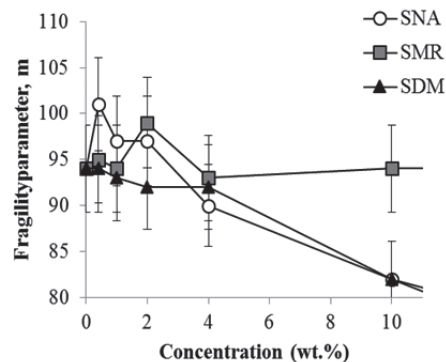


Fig.3 Variation of the fragility parameter, m , of amorphous sulfamethazine with each sulfonamide impurity below 10 wt% of each impurity calculated from T_g width.

5. T_g 上でのスルファメサジンの結晶化

DSC の昇温過程において、スルファメサジンは T_g 上での結晶化は見られなかったが、不純物として、SNA, SMR, SDM を添加した場合に、DSC ヒートフローにスルファメサジンの結晶化に伴う発熱ピークが認められる場合があった。本研究では各組成に対して、4 水準の昇温速度で各 3 回ずつ、合計 12 回の測定を実施した。DSC ヒートフローの例として、不純物を加えないスルファメサジンと 1.0 wt% の SNA を混入させたスルファメサジンの結果を **Fig.4** に示す。この全測定のうち、 T_g 上で結晶化に伴う発熱ピークが認められた測定数を **Table 2** に示す。いずれの不純物の系においても、不純物量が 0.4~2.0 wt% の範囲でスルファメサジンの結晶化が生じる頻度の増加が認められた。一方で、これ以上の不純物量になると結晶化は認められなくなった。SNA の系においてのみ 10 wt% 以上で再び結晶化の頻度が増加した。データは示していないが、すべての系において結晶化温度の変化はほとんどなかった。

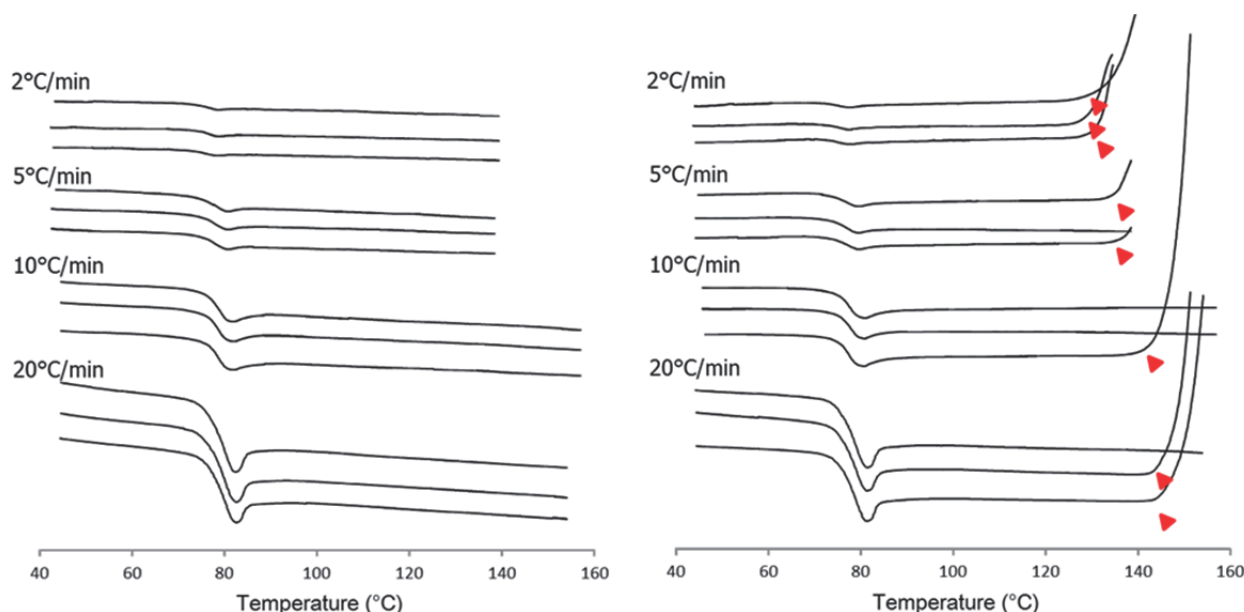


Fig.4 DSC heating curves of a) sulfamethazine pure and b) sulfamethazine with 1.0 wt% sulfanilamide. Each 12 lines are described from the total of the triplicates for each heating rate (2, 5, 10 and 20 °C).

Table 2 Number of DSC measurements in which the crystallization of sulfamethazine Above T_g was observed.

Sample	Heating rate				Total
	2°C/min	5°C/min	10°C/min	20°C/min	
Sulfamethazine	0	0	0	0	0
With SNA					
0.4 wt%	1	0	1	3	5
1 wt%	3	2	1	2	8
2 wt%	1	0	1	2	4
4 wt%	1	0	1	0	2
10 wt%	2	3	3	3	11
20 wt%	3	1	0	0	4
30 wt%	1	0	0	0	1
With SMR					
0.4 wt%	0	0	0	0	0
1 wt%	2	1	0	2	5
2 wt%	0	3	3	1	7
4 wt%	0	0	1	0	1
10 wt%	0	0	0	0	0
20 wt%	0	0	0	0	0
30 wt%	0	0	0	0	0
With SDM					
0.4 wt%	0	0	1	0	1
1 wt%	0	1	1	1	3
2 wt%	1	0	0	2	3
4 wt%	0	0	0	0	0
10 wt%	0	0	0	0	0
20 wt%	0	0	0	0	0
30 wt%	0	0	0	0	0

6. 分子運動性に対する不純物の影響の考察

本研究では、非晶質スルファメサジンの物性に対する構造類似不純物の影響を評価することを試みた。ここで、二成分系の融点及び T_g に関しては、いずれも理論的な計算からの逸脱は無く、一般的な二成分系の挙動を元に解釈することができると考えられた。一方でフラジリティパラメーター及び T_g 上での結晶化傾向については、微量の不純物が存在するときに特徴的な変化が観察された。

熱分析を用いたフラジリティの評価方法のうち、比熱容量の比から求める方法は熱力学的フラジリティと呼ばれる。一方、 T_g の昇温速度依存性や T_g の幅から算出する方法はいずれも熱分析の速度論的な要素が含まれており、動的フラジリティと呼ばれる。そのため、動的フラジリティパラメーターのほうが非晶質の分子運動性を推測するのに適切であるということが出来る。

非晶質体は密度分布の揺らぎをもった不均一な系であると考え。 T_g 近傍の過冷却液体中ではいくつかの分子が協同的に運動する領域を Cooperative rearranging region (CRR) とするとき、以下の式で表される¹⁶⁻¹⁷⁾。

$$V_\alpha = \frac{K_B T_g^2 \Delta(C_V^{-1})}{\rho(\delta T)^2} \quad (5)$$

ここで、 V_α は CRR の体積、 K_B はボルツマン定数、 $\Delta(C_V^{-1}) = (C_V^{\text{glass}})^{-1} - (C_V^{\text{liquid}})^{-1}$ 、ここで C_V^{glass} と C_V^{liquid} は、それぞれ T_g でのガラス状態と液体状態の定積比熱容量、 ρ は密度である。 δT は CRR の温度揺らぎの平均であり、温度変調型 DSC から得られる動的複素比熱 $C^* = C' + iC''$ における虚数項 C'' のピークの幅から求めることができ、ガラス転移の温度幅に関係する。本研究では、微量の比熱容量は一定と考えることができるので、CRR の体積は T_g のから直接推測することができると考えられる。すなわち T_g

の温度幅が小さくなることにより V_α (CRR の体積) が増大することになる。

不純物の存在が非晶質体の密度の不均一性を増加することは容易に想像できる。フラジリティパラメーターの増加もこの不純物による不均一性の増大により分子運動性が高まったことに起因すると示唆され、¹⁸⁾ また結晶化傾向の増加に影響したものと考えることが出来る。

DSC 昇温過程における結晶化現象は、物質の非晶質状態からの結晶化傾向を見積もるのに簡便な方法である。¹⁹⁾ 不純物を加えない非晶質スルファメサジンは、 T_g 上での結晶化は認められず結晶化しにくい物質とすることができる。一方、微量の不純物を添加することにより、スルファメサジンは T_g 上で結晶化が起こる頻度が増加した。すなわち、結晶化しやすい状態になったとすることができる。このとき、結晶化する温度には不純物組成に対してほとんど変化が認められなかった。このことより、不純物の存在による結晶化傾向の変化は、結晶核発生の過程に影響を与えていると推測できる。

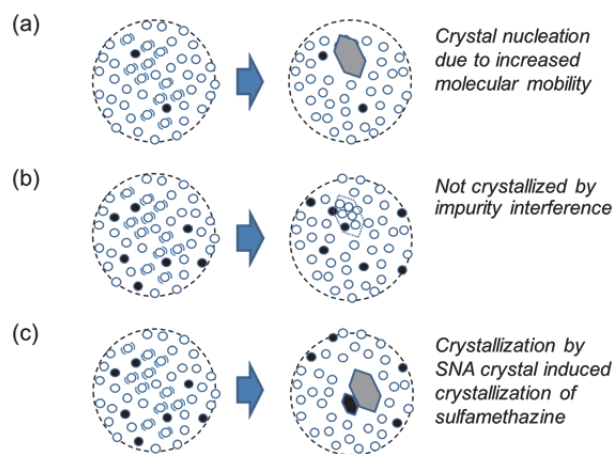


Fig.5 Schematic images of estimated mechanisms of crystallization of sulfamethazine observed in this study. Open and black circles indicate sulfamethazine and impurity molecules, respectively. Gray and black hexagons are sulfamethazine crystal and impurity crystal, respectively. (a) Crystallization was accelerated by the increased molecular mobility due to the presence of a small amount of impurity, (b) crystallization was inhibited by existence of high amount of impurity molecules, and (c) a large amount of SNA crystallized first and induced the crystallization of sulfamethazine.

今回観察された事象を **Fig.5** に示すモデルにより説明をする。不純物が存在しない非晶質スルファメサジンでは、各分子の運動性が適切な距離間により安定性を保ち、結晶化が生じにくい状態となっている。ここに微量の不純物を混入させたとき、先述した微量の不純物の存在による密度の揺らぎ及び分子運動性の増加をもたらし、スルファメサジンの結晶化傾向を増加させた (**Fig.5(a)**)。エントロピーの増大により、熱力学的に安定な結晶状態への移行を促進したと言い換えることもできる。一方で、さらなる不純物量の増加により結晶化が生じにくくなった。これは異物である不純物が各形成を阻害する働きを示したことによると考えられる (**Fig.5(b)**)。SNA が 10 wt%以上の系において、再び結晶化傾向が大きく増大したが、これは結晶化しやすい SNA それ自身が先に結晶化し、この SNA 結晶によりスルファメサジンの結晶核形成が誘起されたと考えられる (**Fig.5(c)**)。

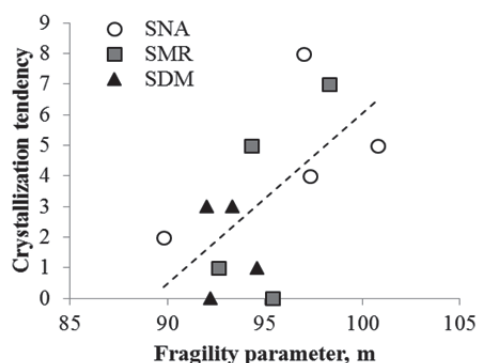


Fig.6 Relationship between the crystallization tendency in DSC measurement and the fragility parameter, m , obtained from T_g width.

フラジリティパラメーター m と DSC 測定中のスルファメサジンの結晶化頻度との相関性を Fig.6 に示す。相関性は高くないものの、フラジリティパラメーターの増加に伴い結晶化の頻度が増加している様子が認められる。フラジリティパラメーターの増加は主に SNA 及び SMR を不純物とした系で観察されたが、SDM を不純物とした系ではフラジリティの変化は認められなかった。しかし、SDM を不純物とした系でもスルファメサジンの結晶化の頻度がわずかに増加しており、フラジリティパラメーター m のみでスルファメサジンの結晶化傾向の変化についてすべてを説明することはできない。

また、不純物とした化合物の違いによる非晶質スルファメサジンの分子運動性に対する影響の違いまで説明を加えることはできておらず、今後のさらなる研究が必要である。

7. まとめ

非晶質スルファメサジンの分子運動性と結晶化傾向に対する構造類似不純物の影響を熱分析により研究した。非晶質スルファメサジンのガラス転移温度は不純物の量の増加に伴い Gordon-Taylor 式に従って変化した。ガラス転移温度の幅から算出したフラジリティパラメーターは微量の SNA または SMR を混入させたときに、わずかに増加した。また、このとき DSC での昇温過程での T_g 後にスルファメサジンの結晶化が生じる頻度が増加した。これは微量の不純物が存在するときに非晶質状態の分子密度の不均一性により局所的な揺らぎが生じたと推測することができる。また、この分子運動性の変化がスルファメサジンの非晶質からの結晶化頻度が増加したと関係していると示唆された。

本研究では非晶質スルファメサジンをモデル化合物として用い、微量の構造類似不純物を意図的に加えることでその物理化学的性質に対する影響を捉えることを試みた。その結果、極微量の不純物によっても非晶質からの結晶化傾向に変化が認められることが確認された。つまり、原薬に含まれる微量の構造類似不純物の存在が、原薬の物理化学的性質を変化させる可能性があることを示すものである。これは、あくまでモデル化合物を用いた一例であり、多種多様な有機化合物とそれに含まれる不純物との組み合わせに対して、必ずしも一般化することはできない。薬剤学分野においてこのような研究のアプローチはほとんど見られないようであるが、様々な有機不純物の物性への影響についての研究が蓄積されることで、より不純物の物性への影響が整理され、高品質な医薬品の開発研究に貢献できるものと期待する。

また同時に、物理化学の研究において、研究に用いる試薬に対して、その純度や不純物の混入量に対しても注意を払うことが重要であることを改めて提言したい。

謝 辞

本研究の遂行にあたり指導くださり、また本稿の執筆の機会を頂きました星薬科大学米持悦男教授に深く感謝いたします。本研究を実施するにあたり多大な支援を頂いた第一三共株式会社の関係者皆様に感謝申し上げます。

文 献

- 1) E. Yonemochi, S. Kitahara, S. Maeda, S. Yamamura, T. Oguchi, and K. Yamamoto, *Eur. J. Pharm. Sci.* **7**, 331-338 (1999).
- 2) M. Otsuka and N. Kaneniwa, *Int. J. Pharm.* **62**, 65-73 (1990).
- 3) S. Kitamura, A. Miyamae, S. Koda, and Y. Morimoto, *Int. J. Pharm.* **56**, 125-134 (1989).
- 4) B. C. Hancock, S. L. Shamblin, and G. Zografi, *Pharm. Res.* **12**, 799-806 (1995).
- 5) C. Bhugra and M. J. Pikal, *J. Pharm. Sci.* **97**(4), 1329-1349 (2008).
- 6) Y. Aso, S. Yoshioka, and S. Kojima, *J. Pharm. Sci.* **90**(6), 798-806 (2001).
- 7) G. F. Needham, R. R. Pfeiffer, G. L. Engel, B. S. Rutherford, and D. J. Allen, *J. Pharm. Sci.* **81**, 1012-1014 (1992).
- 8) L. Yu, D. S. Mishra, and D. R. Rigsbee, *J. Pharm. Sci.* **87**, 774-777 (1998).
- 9) J. Bauer, S. Spanton, R. Henry, J. Quick, W. Dziki, W. Porter, and J. Morris, *Pharm. Res.* **18**(6), 859-866 (2001).
- 10) Y. Hamada, M. Ono, M. Ohara, and E. Yonemochi, *J. Pharm. Sci.* **106**, 1062-1068 (2017).
- 11) S. Chattoraj, C. Bhugra, C. Telang, L. Zhong, Z. Wang, and C. C. Sun, *Pharm. Res.* **29**, 1020-1032 (2012).
- 12) V. Caron, Y. Hu, L. Tajber, A. Erxleben, O. I. Corrigan, P. McArdle, and A. M. Healy, *AAPS Pharm. Sci. Tech.* **14**(1), 464-474 (2013).
- 13) K. J. Crowley and G. Zografi, *Thermochimica Acta.* **380**, 79-93 (2001).
- 14) C. T. Moynihan, A. J. Easteal, J. Wilder, and J. Tucker, *J. Phys. Chem.* **78**(26), 2673-2677 (1974).
- 15) C. T. Moynihan, S. K. Lee, M. Tatsumisago, and T. Minami, *Thermochimica Acta.* **280/281**, 153-162 (1996).
- 16) S. Vyazovkin and I. Dranca, *J. Phys. Chem. B.* **109**, 18637-18644 (2005).
- 17) I. Dranca, S. Bhattacharya, S. Vyazovkin, and R. Suryanarayanan, *Pharm. Res.* **26**(5), 1064-1072 (2009).
- 18) S. Bhattacharya and R. Suryanarayanan, *J. Pharm. Sci.* **98**(9), 2935-2953 (2009).
- 19) J. A. Baird, B. van Eerdenbrugh, and L. S. Taylor, *J. Pharm. Sci.* **99**(9), 3787-3806 (2010).



浜田 義人
Yoshito Hamada
E-mail: hamada.yoshito.tc@daiichisankyo.co.jp