

熱分析による医薬品の安定性予測

住友化学工業 有機合成研究所 上田 洋一

1 はじめに

安定性試験は、医薬品開発において最も長い期間を要する試験の1つである。安定性試験のやり直しは医薬品の開発を遅らせる要因となるといっても過言ではない。よって、安定性試験の開始前に予備安定性試験を行い、長期間安定に保存できる条件を探索する。しかし、長期間の保存中に起こる各種分解を試験前の短時間で正確に把握し、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。

より良い医薬品を早期に上市するためには予備安定性試験を効率化し、より多くの正確な情報を基に保存条件を設定することが必要である。

我々は、その解決策として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¹⁾を開発した。本稿では、ビタミンD誘導体の解析事例を挙げて本法を紹介する。

2 熱分析装置

安定性試験は、恒温恒湿器等を用いて医薬品を各種の条件下に一定期間置き、品質を経時的に評価する方法で行う。予備安定性試験も同様の

装置を用いて、苛酷な条件で行うことが多い。

恒温恒湿器の代りに熱分析装置を用いる方法では、図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²⁾を用いる。この雰囲気ガス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³⁾。

熱分析装置（示差熱天秤）を用いる利点は、第1に、試料温度が測定できることである。後述のArrhenius-plotの横軸は反応場の温度（試料温度）であり、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、高温で分解した場合でも分解に伴う吸・発熱が予測値の誤差となることがない。

第2に、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。もし、実施可能な保存温度域で安定性が確保できないと予測された場合でも、各分解要因がどの程度分解に関与しているのかがわかるため、効果的な分解対策をとることができる。

第3に、一様な分解メカニズムで分解させることができたのかを、分解に伴う吸・発熱と重量変化により観測できることが挙げられる。

分解後に試料を観察すると融解した形跡が見られることがあるが、これは生成した分解物によって融点降下が起こり、試料が融解した結果と推定される。このような場合、吸・発熱曲線に変化が記録され、分解開始後何時間で融解したかがわかる。恒温恒湿器と異なり、クロマトグラフ法で分析するまでもなく分解ガス

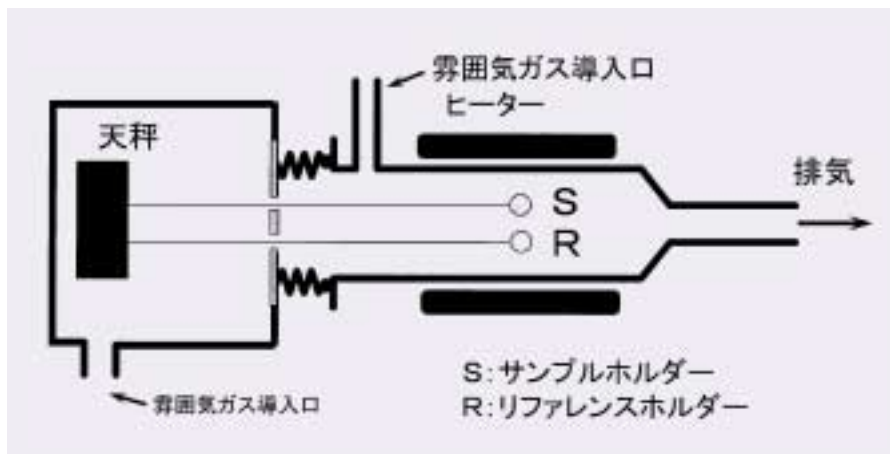


図1 安定性予測に用いるTG / DTA装置

成分の有無や酸化、吸湿等を重量変化により知ることができる。

3 分解要因の探索

医薬品の場合に考慮すべき分解要因は、熱、水、酸素および光である。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。しかし、熱は完全に取り除くことができず、水および酸素は、空气中に存在する。

熱分析装置を用いる方法では、表1に示したように、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。

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290nm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290nm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、290～450nm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⁴⁾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、表1の方法により探索することができる。

表1 熱分析の雰囲気ガスと分解の種類

雰囲気ガス	分解の種類
窒素	熱分解
酸素	熱分解+酸化分解
加湿した窒素	熱分解+加水分解

4 解析上限温度

短時間で安定性を予測するためには、高温で分解することが必要である。しかし、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。よって、解析すべき室温付近での分解が反映される上限温度を明らかにすることが必要である。

図2は、熱分析装置を用いてビタミンD誘導体の熱分解について解析したTG/DTA曲線である。ビタミンD誘導体を110 から120 に昇温した際に吸・発熱変化曲線において吸熱が観測されている。これはビタミンD誘導体の融解によるものであり、熱分解の解析上限温度は、110 であることがわかる。

図3は、同様にビタミンD誘導体の酸化分解について解析したTG/DTA曲線である。30 から80 までは重量変化、吸・発熱ともに各温度で横這いであり、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、これが100 では顕著に認められる。そして110 では脱水と思われる吸熱を伴う重量

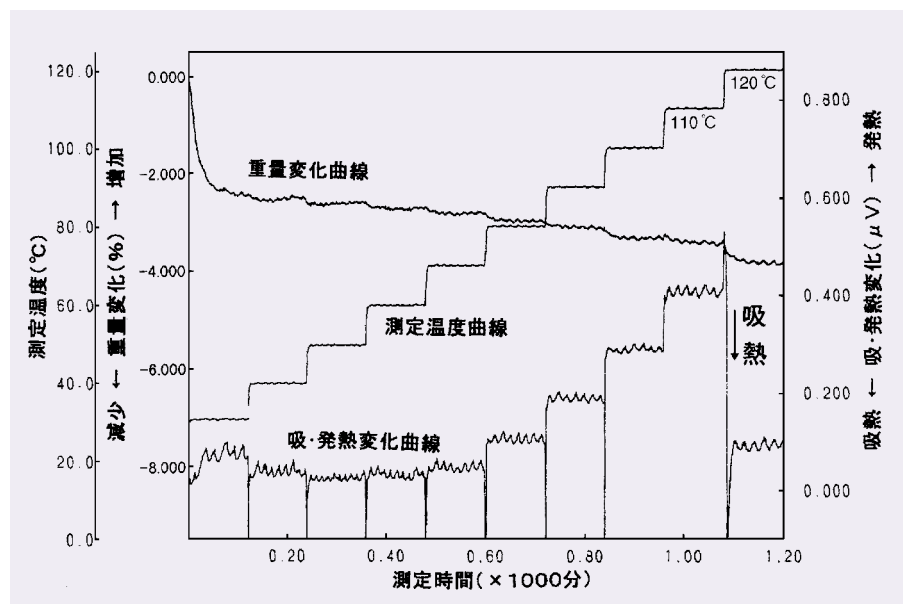


図2 窒素雰囲気中で測定したビタミンD誘導体のTG/DTA曲線

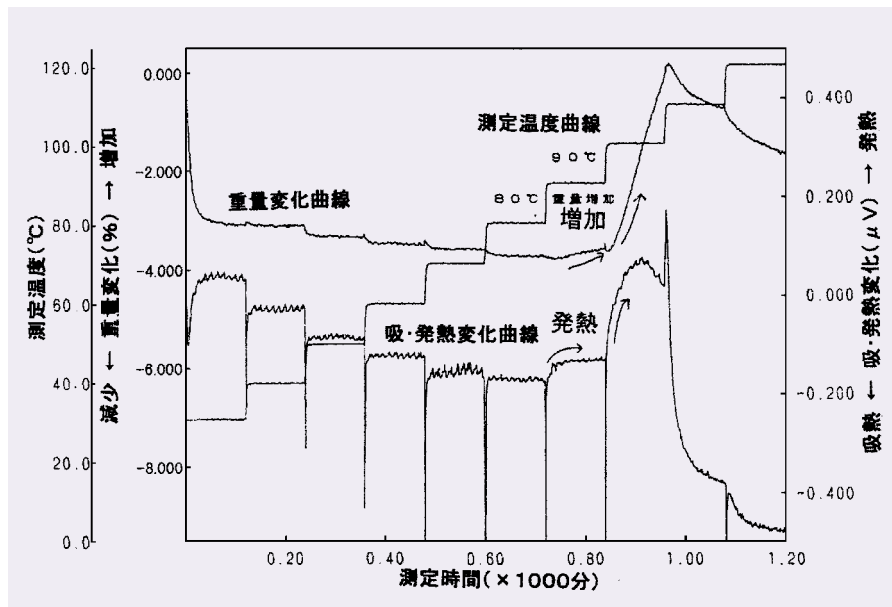


図3 酸素雰囲気中で測定したビタミンD誘導体のTG / DTA 曲線

減少が観測されている．この結果より，ビタミンD誘導体は酸素により酸化し，酸化分解の解析上限温度は，80 °C であることを容易に知ることができる．

(熱測定条件)

試料容器：

オープン型アルミニウム製

試料量：

1mg

リファレンス試料：

なし (空の試料容器のみ)

雰囲気ガス：

窒素ガスまたは酸素ガス 50ml / 分 (一定流量)

温度プログラム：

階段状昇温法 (試料温度を 30 °C で 2 時間保持したのち，100 °C / 分で 10 °C 昇温しては一定温度に 2 時間保温するステップを 120 °C に達するまで繰り返した.)

5 反応速度式

分解要因と解析上限温度がわ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 $kt = f(x)$ [式中， k は反応速度定数， t は分解時間を表し， $f(x)$ は分解率の関数] 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，分解時間 t に対して $f(x)$ 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．

ビタミンD誘導体の反応速度式の解析については割愛するが，以下の反応速度論的解析は最も良い直線性

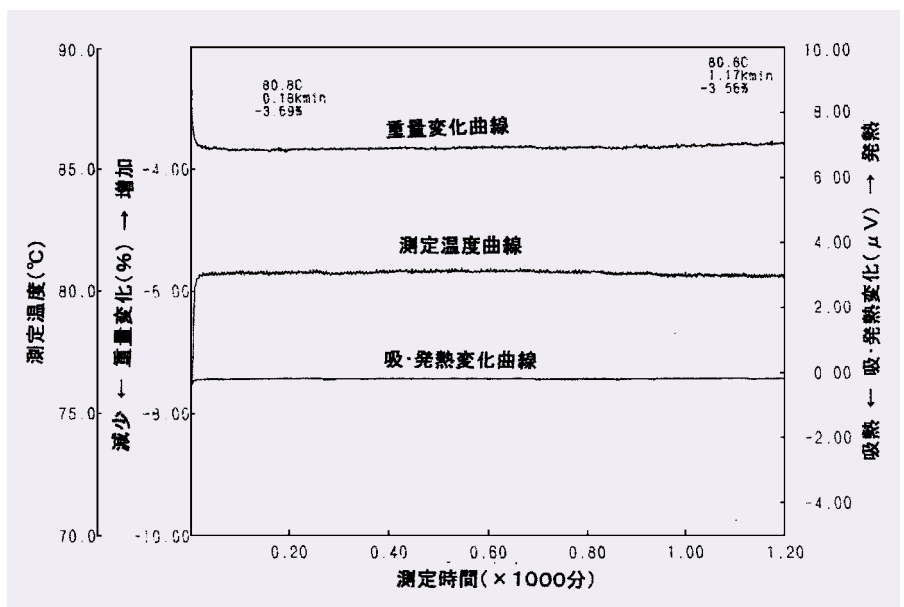


図4 ビタミンD誘導体の一定温度における分解挙動 (酸素雰囲気)

を示した二次反応速度式で解析した。

6 Arrhenius式

マイクロ天秤を用いてアルミニウム製の試料容器にビタミンD誘導体を1 mg ずつ精密に秤量し、熱分析装置を用いて分解した。分解条件は、酸素雰囲気下60 28時間、70 25時間、80 20時間である。比較対照として窒素雰囲気下、試料温度80 一定で60時間の分解も行った。

図4は、ビタミンD誘導体を酸素雰囲気下80 一定温度で20時間分解した際のTG/DTA曲線である。

分解中に有意な吸・発熱の変化および重量変化は観察されなかった。分解前のビタミンD誘導体をコントロール(残存率100%)として、分解した後のビタミンD誘導体を以下の液体クロマトグラフ条件で分析した。定量方法の標準偏差は0.2%であった。

(液体クロマトグラフ条件)

試料溶液注入量：

10 μ L (ビタミンD誘導体5 μ g 相当)

測定波長：

UV265nm

カラム：

オクタデシルシリカゲルカラム

[5 μ m, 4.6mm x 25cm]

カラム温度：30 一定

移動相：

メタノール・水・アセトニトリル
混液(混合比13:5:2)

移動相流量：

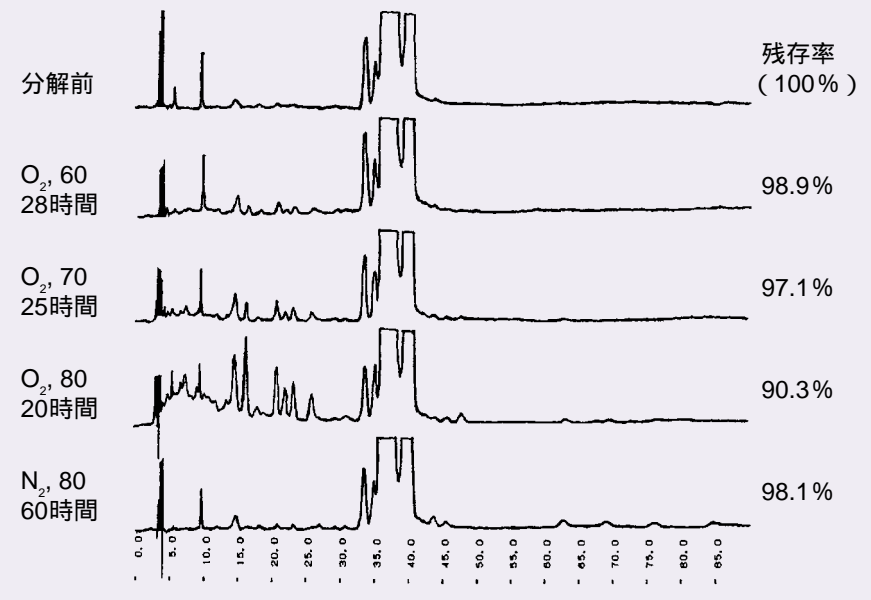


図5 ビタミンD誘導体の液体クロマトグラム

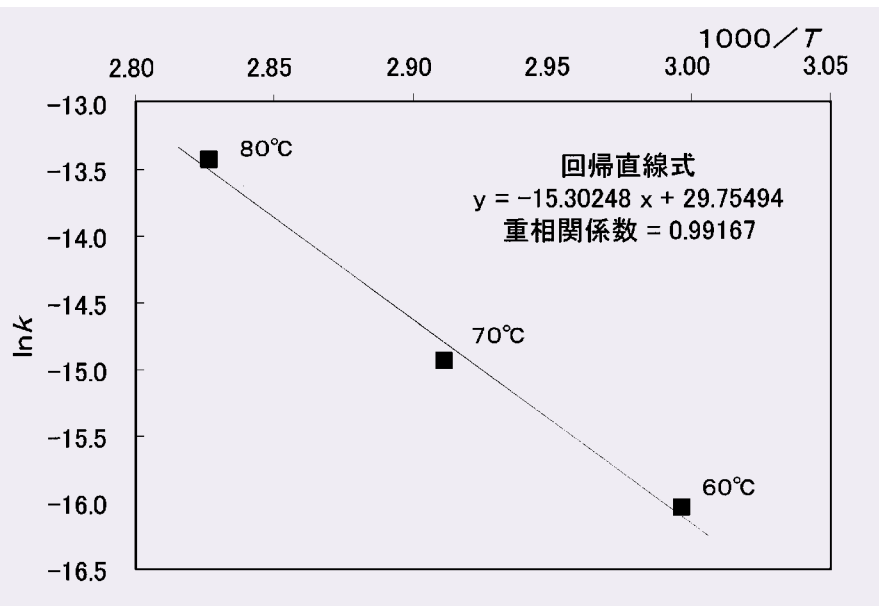


図6 ビタミンD誘導体の酸化分解のArrhenius-plot

毎分0.8mL

ビタミンD誘導体の液体クロマトグラムを図5に示す。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溶出しているが、窒素雰囲気下で分解したのものには殆ど見られない。このことからビタミンD誘導体は、酸素による酸化が主な分解であることがわかる。

分解時間 t と残存率(1 -)から酸素雰囲気下60 , 70 , 80 の各一定温度における二次反応速度定数 k を算出し、図6のArrhenius-plotを得た。絶対温度 T の逆数を1000倍した値を横軸に取り、各温度における反応速度定数の自然対数 $\ln k$ を縦軸にとってプロットし、回帰直線式($y = -15.30248x + 29.75494$)

を得た。この回帰直線式がArrhenius式であり、式中、 y は $\ln k$ を表し、 x は $1000/T$ を表す。重相関係数は0.99167であった。- E_a/R は、-15.30248であり、これに気体定数 $R = 8.31451 \text{ J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ を代入して活性化エネルギー $E_a = 127.23 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ の値が得られた。頻度因子 A は、 $\ln A = 29.75494$ であることから $A = 8.3639 \times 10^{12} \text{ sec}^{-1}$ となる。二次反応速度式の場合には1秒あたりの分子の衝突回数である。

7 安定性予測

頻度因子に酸素濃度を掛けることにより、空気雰囲気中で0 ~ 40 の各一定温度にビタミンD誘導体を保存した場合の3年後の残存率を予測した。計算結果を表2に示す。ビタミンD誘導体を酸素雰囲気下で保存する場合には、0 以下で冷凍保存することにより3年後も残存率が99.99%以上であると予測された。

同様にして、アルゴン雰囲気中における安定性について予測した。結果を表3に示す。ビタミンD誘導体は、保存容器内の空気をアルゴンガ

スで置換し酸素濃度0.3%以下にすることにより、25 以下で保存すれば3年後も残存率99.99%以上であると予測された。

実際に高純度アルゴンで容器内の空気を置換して容器内の酸素濃度を0.3%以下とし、25 一定温度、遮光条件下でビタミンD誘導体の安定性試験を1年間行った。その結果、1年後も残存率100%であり、分解物も生成していないことが確認できた。

8 おわりに

熱分析による安定性予測法は、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。

解析に要する期間は分解から計算まで約2週間である。操作は、主に熱分析とクロマトグラフ分析と簡便である。

本法は、原薬のみならず、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ことから、現在は解析を受託できる体制づくりを行っている。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。

本技術が多くの方のお役に立つ日が来ることを望む。

文 献

- 1) 上田 洋一, 特許第3322242号.
- 2) 美濃部 正夫ら, 特許第3113998号.
- 3) 中村 信隆ら, 特許第3084472号.
- 4) EU Commission Directive 94/37/EC amending Council Directive 91/414/EEC Annex I, 2.9.2 (1994).

表2 空気雰囲気下で3年間保存した場合の残存率の予測結果

想定保存温度()	3年後の残存率(%)
0	99.99
10	99.95
20	99.66
25	99.20
30	98.14
40	91.34

表3 アルゴン雰囲気下で3年間保存した場合の残存率の予測結果

想定保存温度()	3年後の残存率(%)
0	100.00
10	100.00
20	99.99
25	99.99
30	99.97
40	99.86



上田 洋一
(うへだ よういち)
前大阪事業所