

医薬品開発における結晶形の効率的選択 —塩・結晶多形スクリーニングへのラマン 分光法の応用—

Effective selection of crystal form in pharmaceutical development

Application of Raman spectroscopy to salt and polymorph screenings

ファイザー株式会社 中央研究所¹⁾, 神戸薬科大学²⁾

小蔦隆史¹⁾, 松田芳久²⁾

TAKASHI KOJIMA¹⁾, YOSHIHISA MATSUDA²⁾

Pharmaceutical R&D, Science and Technology, Pfizer Global Research and Development,
Nagoya Laboratories, Pfizer Japan Inc.¹⁾
Kobe Pharmaceutical University²⁾

Crystal form selection of pharmaceutical compounds including salts, cocrystal and polymorphs is an essential process in the field of drug development. In order to optimize the crystal form, numerous studies dealing with high-throughput salt and polymorph screening on multi-well plates have been conducted. High-throughput salt and polymorph screening is commonly performed by using powder X-ray diffractometry (PXRD) and Raman microscopy. Raman microscopy is especially useful for salt screening, since the technique can provide not only physical information but also chemical information. This review introduces an effective method for salt and polymorph screening by using multi-well plates and Raman microscope, providing information on the stoichiometry of pharmaceutical drug salts obtained. In addition, a case study of pharmaceutical development using salt screening with Raman microscopy is described.

はじめに

市販製剤の原薬や開発段階にある医薬品の大多数は結晶であるが、医薬品は複雑な化学構造を有することから約70%以上が複数の結晶形(結晶多形・擬似多形)をもつことが知られている。個々の結晶形は固有の物理化学的・化学的性質を有することから、固体医薬品の開発において、最適な結晶形を選択し、さらに選択された結晶形の物性を十分に評価しておくことは、合理的な製剤設計を図り、かつ製剤工程を円滑化するために極めて重要である。例えば、医薬品の開発過程における候補化合物の塩や結晶形の種類により、薬物動態や安全性^{1,2)}だけでなく、製造工程や品質管理面への影響³⁻⁵⁾等が報告されている。また、医薬品開発において選択した結晶形が不適切であったことに起因する特許訴訟⁶⁾や市販品の製造中止⁷⁾の事例もあり、企業が受けるダメージだけでなく社会に対する影響も大きい。

結晶形選択の重要性は多くの製薬企業で認識されてお

り、ほぼ共通したプロセスの概念(Fig. 1)を持っていると思われる。しかし、実際には結晶形選択を実施している製薬企業にとって社外(学界)における結晶形選択のプロセスや選択された結晶形についての議論は知的財産の観点から困難であることが多い。そのため、短期間かつ低コストを可能とする効率的な結晶形の選択方法および物性評価方法については学界で十分体系的に議論されず、多くの製薬企業では結晶形の選択および物性評価は各社のノウハウに依存した独自のプロセスで行われ、時には非効率的な場合も見受けられる。このため、近年、欧米のベンチャー企業を中心として開発化合物の結晶形選択ツールの販売、受託研究、さらには結晶形選択のコンサルタント業務までがビジネスとなり、活発化している。言うまでもなく、医薬品開発における結晶形の選択を効率的に行うためには、医薬品候補化合物の物性プロファイルとその問題点だけでなく、マーケットの状況、開発コストの予測等の情報も必要であり、科学技術とビジネスの両観点のバランスが重要である。本稿では、結晶形

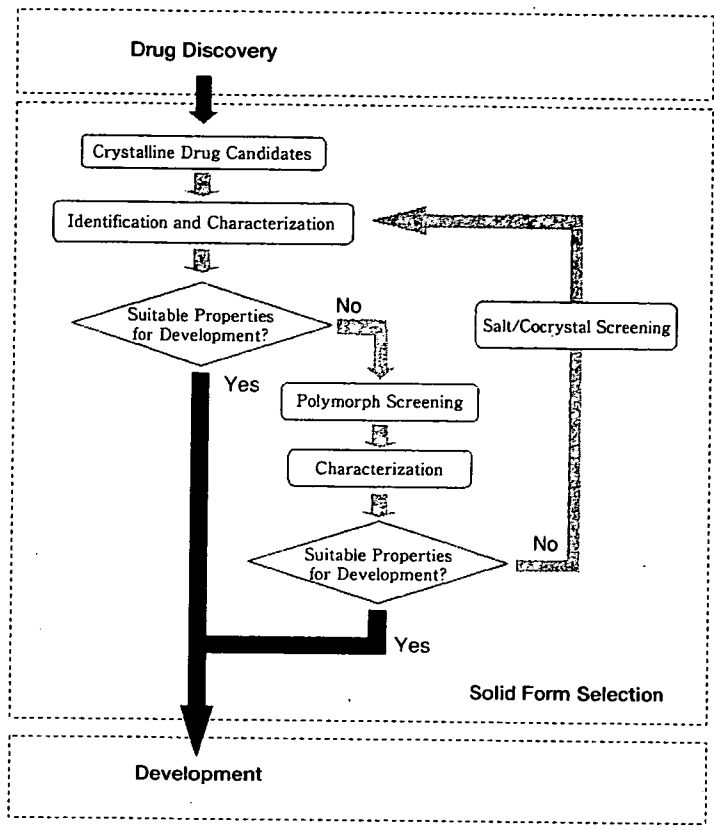


Fig. 1 Typical solid form selection process.

選択のための科学技術の現状と筆者らが開発した新規手法、さらには医薬品開発への適用例について紹介する。

1. 塩・結晶多形スクリーニングの現状

医薬品候補化合物の塩や結晶多形の中から開発に適した結晶形を効率的に選択するためには、塩や結晶多形を含めたすべての結晶形について把握しておく必要がある。複数の塩それぞれについての結晶多形の存在を考えると、その数は莫大であり、そのために実施されるのが塩・結晶多形のスクリーニングである。スクリーニング法として、計算化学による予測とスクリーニング実験による手法に分けられる。

計算化学による予測は実際の化合物を必要とせず、開発早期の段階での実施を可能とする。近年、結晶多形の存在や安定形結晶の予測など、さまざまな試みが報告されている⁹⁾。現在、専用のソフトウェアも販売されているが、溶媒和物、塩、共結晶などの多成分結晶の予測性能は必ずしも十分ではなく、今後の発展が期待される。このことから、現時点では計算化学的手法は補足的な取り扱いにとどまっており、実験による塩や結晶多形の探索が必要とされている。

これに対して、スクリーニング実験による塩や結晶多形の探索は多大の労力と時間を要するため、Symyx, TransForm, Aptuit(SSCI), Avantium等の企業におい

Table 1 Summary of Articles of Regarding the Salt and Polymorph Screenings with Multi-Well Plate

Year	Journal	Affiliation	Author	Screening	Analytical Method	Information
2002	J. Am. Chem. Soc.	TransForm Pharmaceuticals	Peterson, M.L. et al. ¹⁰⁾	Polymorph	Raman microscopy	Polymorphism
2003	Proc. Natl. Acad. Sci. USA	TransForm Pharmaceuticals	Morissette, S. L. et al. ¹²⁾	Polymorph	Raman microscopy	Polymorphism
2003	Pharma Chem.	Symyx Technologies	Calson, E. D. et al. ¹³⁾	Salt	Raman microscopy PXRD*	Salt formation Polymorphism
2003	Cryst. Growth. Des.	TransForm Pharmaceuticals	Almarsson, O. et al. ¹⁴⁾	Polymorph	PXRD*	Polymorphism
2003	Org. Process Res. Dev.	TransForm Pharmaceuticals	Remenar, J. F. et al. ¹⁵⁾	Salt	Raman microscopy PXRD*	Salt formation Polymorphism
2004	Pharm. Res.	University of Georgia	Ware, E. C. et al. ¹⁶⁾	Salt	Polarized light microscopy	Crystal
2006	Pharm. Res.	Pfizer Japan Kobe Pharm. Univ.	Kojima, T. et al. ²⁰⁾	Salt	Raman microscopy	Salt formation Stoichiometry Polymorphism

* Powder X-ray diffractometry

て特殊なスクリーニングツールの販売や受託研究が行われている。塩や結晶多形のスクリーニングに労力と時間を費やす理由として、塩を形成するための酸や塩基と結晶多形を得るための溶媒の組合わせ数、晶析条件等の因子により膨大な実験量が必要とされるからである¹⁰⁻¹⁹⁾。実際、結晶多形のスクリーニングだけでもリトナビルを用いた検討では2,000以上の晶析実験の報告がなされている²⁰⁾。塩や共結晶の場合では認可された100種類以上の添加剤²⁰⁾との組合わせを考えると、実に数万に及ぶ実験の組合わせが必要となる。このように、膨大な実験量を必要とするため、塩や結晶多形のスクリーニングは、一般にマルチウェルプレートを利用し、多数の組合わせで調製したサンプルについて、マルチウェルプレート対応の粉末X線回折測定やラマン顕微鏡を用いた分析を行う。さらに、スクリーニングにより得られるデータは膨大であるため、クラスター解析ソフトウェア等により自動解析が行われる²¹⁾。これらのソフトウェアを用いた結晶形の分類は、近年、塩および結晶多形スクリーニングに応用されている²²⁾。Table 1に現在までに報告された、マルチウェルプレートを使用した塩および結晶形スクリーニングに関する論文をまとめた^{11-15, 18, 23)}。

2. ラマン顕微鏡を用いた塩・結晶多形スクリーニング法の開発

(1) ラマン分光法の原理

ラマン分光学の歴史は古く、1928年のラマン散乱の発見以降に始まったが、ラマン散乱光の強度が励起光の 10^{-7} 以下と非常に弱く、分析機器の感度の問題上、実用化は困難であった。その後、1970年代に励起光としてレーザー光が応用されるようになり、材料科学分野を中心に研究が頻繁に行われ、今日では一般的な分析機器として商品化されるに至っている。

ラマン分光法では振動数 ν の光を分子に照射した際、散乱光として振動数 ν の他に $\nu \pm \Delta\nu$ の光が散乱される。前者はレイリー散乱光(ν)、後者はラマン散乱光($\nu \pm \Delta\nu$)と分類され、振動数 $\nu - \Delta\nu$ 、 $\nu + \Delta\nu$ の成分はそれぞれストークス散乱光、アンチストークス散乱光である。ここで、 $\Delta\nu$ をラマンシフトといい、一般に、強度が強いストークス散乱光を観察することによって得られたスペクトルをラマンシフトとして波数(cm^{-1})で表示する。

ラマン分光法では赤外分光法と同じく振動スペクトル

Sani-Tech[®]

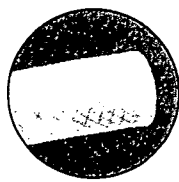
サニテック[®]

米国製薬業界で多大な支持を得ている
SANI-TECH[®] (サニテック[®]) ブランドのシリコン製品



STHT-C

レーザーマーキング対応
シリコンチューブ



STHT-R

白金加硫、ブレード補強
シリコンホース



STHT-R-HD

STHT-Rに優れた柔軟性を付与したシリコンホース

サンゴバン株式会社 機能樹脂事業部
カスタマーサービス

〒391-0106 長野県諏訪郡原村10801-5 TEL:0266-79-6400 FAX:0266-70-1001

URL: <http://www.tygon.saint-gobain.co.jp>

<http://www.biopharm.saint-gobain.com>

パリエーションテストの結果につきましては当社までお問い合わせ下さい。
サニテック、Sani-Tech[®]、サンゴバン株式会社の登録商標です。



SAINT-GOBAIN
PERFORMANCE PLASTICS

DM資料請求カードNo.246

Table 2 Raman Spectra Classification of Tamoxifen Salts on 96-Well Plates²⁾

Counter acids	TAM : CA	Solvents												
		MeOH	EtOH	IPA	MeCN	Acetone	EtOAc	IPE	THF	Toluene	DCM	cHex	Water	
1 Methanesulfonic acid ^a	1 : 1	M1	M1	M1	M1	M1	M1	M1	M1	M1	M2	M2	M1	-
2 Benzenesulfonic acid ^b	1 : 1	-	B2	B1	B2	-	B1	B1	-	B2	B2	B1	B2	
3 L-Tartaric acid ^c	1 : 1	T1	T1	T1	T1	T1	T1	T1	T1	T1	T1	T2	T1	T1
4 L-Tartaric acid ^c	2 : 1	T2	T1	T2 Free	T1	T2	T2	T2 Free	T1	T1	T1	T2	T2	
5 Fumaric acid ^d	1 : 1	F2	F1	F1	F1	F1	F1, F2	F2	F2	F2	F2	F2	F1	
6 Fumaric acid ^d	2 : 1	F1	F1	F1 Free	F1	-	-	F2	-	F2	-	-	F1	
7 Citric acid ^e	1 : 1	C1	C1	C1	C1	C1	C1	C1	C1	C2	-	-	C1	
8 Citric acid ^e	2 : 1	C1	C1	C1	C1	-	Free	C2	-	C2	-	-	C1	
9 Succinic acid ^f	1 : 1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	
10 Succinic acid ^f	2 : 1	S1	S1	S1	S1	S1 Free	S1	S1	S1	S1	-	-	S1	
Tamoxifen (free base) ^g	-	Free	Free	Free	Free	-	-	Free	Free	Free	-	-	-	

Abbreviations used in the table ; MeOH, methanol ; EtOH, ethanol ; IPA, isopropyl alcohol ; MeCN, acetonitrile ; EtOAc, ethyl acetate ; IPE, isopropyl ether ; THF, tetrahydrofuran ; DCM, dichloromethane ; cHex, cyclohexane ; TAM, tamoxifen ; CA, counter acid.

a Raman spectra of crystals formed with TAM and methanesulfonic acid (1 : 1) were classified as M1 or M2.

b Raman spectra of crystals formed with TAM and benzenesulfonic acid (1 : 1) were classified as B1 or B2.

c Raman spectra of crystals formed with TAM and L-tartaric acid (1 : 1, 2 : 1) were same patterns and classified as T1, T2, or T3.

d Raman spectra of crystals formed with TAM and fumaric acid (1 : 1, 2 : 1) were same patterns and classified as F1 or F2.

e Raman spectra of crystals formed with TAM and citric acid (1 : 1, 2 : 1) were same patterns and classified as C1 or C2.

f Raman spectrum of crystal formed with TAM and succinic acid (1 : 1, 2 : 1) was just one pattern and classified as S1.

g Raman spectrum of TAM crystal was just one pattern and classified as Free.

により分子の化学的情報が与えられるが、原理は異なり相補的な関係にある。すなわち、赤外活性は双極子モーメントの変化により与えられるのに対し、分極率が変化する振動がラマン活性、これに対して変化しない振動がラマン不活性となる。

ラマン分光法の特徴として、①水分子のラマン散乱強度は弱いので、赤外分光法では困難であった水溶液の測定が可能、②固体、液体、気体すべての状態においての測定が可能、③前処理を必要としない非破壊測定が可能、④1 μm程度の大きさのサンプルでも測定が可能である点などがあげられる。特に、少量のサンプルで迅速な測定が可能であることから、マルチウェルプレートを用いた測定が可能となる。近年、各分析機器メーカーがマルチウェルプレート対応のラマン顕微鏡の開発、販売を行っている。一方、ラマン分光法の短所として、蛍光による妨害、励起波長の4乗に反比例してラマン散乱光の強度が低下する点などがあげられる。特に、開発初期段階のスクリーニング測定を目的とする場合は、サンプル量が少量のため十分なラマン散乱光の強度が得られないことや、不純物による強い蛍光のバックグラウンドなどの問題が想定される。一般に蛍光回避のためには長波長レーザーが励起レーザーとして使用されているが、低感度であるという問題点があるため、励起レーザーの選択には蛍光の回避とラマン散乱光強度獲得のバランスに注意を払う必要がある。

(2) ラマン顕微鏡を用いたタモキシフェンの塩・結晶多形のスクリーニング

マルチウェルプレートを使用した塩や結晶多形のスクリーニングでは、マルチウェルプレート対応の粉末X線回折装置やラマン顕微鏡により分析が行われる。粉末X線回折から結晶形や結晶性に関する物理的情報が得られるのに対して、ラマン分光法からは物理的情報に加え、化合物の構造に関する化学的情報も得られるため、ラマン顕微鏡は塩のスクリーニングにおける分析手法として適している。しかし、塩および結晶多形のスクリーニング分野においては、現在までにラマン顕微鏡から得られる化学的情報についてまだまだ十分に検討がなされておらず、研究報告は極めて少ない。筆者らは、マルチウェルプレートとラマン顕微鏡を用いた塩および結晶多形のスクリーニングから得られる情報の整理およびさらなる効率化を目的として、タモキシフェンをモデル化合物として使用し、その塩および結晶多形のスクリーニングを行った²⁾。さらに、得られたいくつかの塩結晶のスケールアップ晶析操作を行うことにより、マルチウェルプレート法から得られた結果と比較した。

まず、マルチウェルプレート上に12種類の結晶化溶媒と6種類の有機酸を用いて塩を調製し、偏光顕微鏡観察にて結晶性を確認した後、結晶についてはラマン顕微鏡により分析を行った。96ウェルプレート上で得られたタモキシフェン有機酸塩のラマン分光測定結果をTable 2

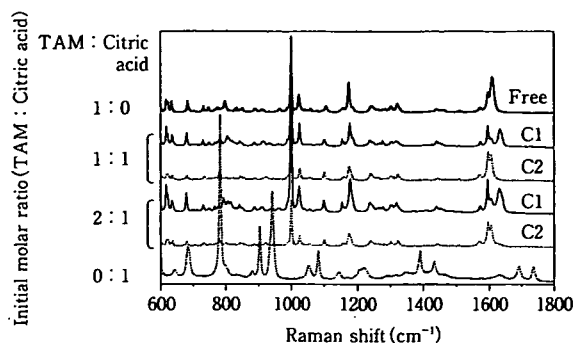


Fig. 2 Raman spectra of TAM, TAM citrate, and citric acid crystals²³⁾. TAM citrate was prepared with TAM and citric acid (1 : 1 and 2 : 1) on 96-well plate. Free, C1, and C2 correspond to the classification in Table 1. (—), TAM (Free); (—), TAM citrate (C1); (—), TAM citrate (C2); (—), citric acid.

に示す。

得られた結晶のすべてのラマンスペクトルを600~1800cm⁻¹のラマンシフト範囲で相互比較し、分類を行った。分類されたスペクトルは別途測定したタモキシフェン結晶および使用した有機酸の結晶のスペクトルと比較し、一致した場合はそれぞれFree, CA (Counter Acid)と記載した。これらに対して、タモキシフェンおよび有機酸のいずれにも合致しないスペクトルについてはタモキシフェン有機酸塩が生成したと判断し、有機酸の英語表記の頭文字で記載した。また、塩であると判断した結晶の異なるスペクトルパターンが同じタモキシフェンおよび有機酸の組み合わせ内で複数ある場合は結晶多形を形成している可能性があるとして判断し、塩を表す頭文字に続いて数字で表記した。例えば、タモキシフェンとメタンスルホン酸(Methanesulfonic acid)の組み合わせの場合、タモキシフェンのメタンスルホン酸塩と判断し、かつ2種類のスペクトルパターンが認められた場合はM1, M2と表記した。

このようにして得られた結晶のラマンスペクトルを比較することにより、タモキシフェン(フリー体)およびコハク酸塩の場合には単一の結晶形が、またメタンスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、フマル酸塩およびクエン酸塩についてはいずれも2種類の結晶多形および擬似多形の可能性が、さらにL-酒石酸塩については3種類の結晶多形および擬似多形の存在の可能性が示唆された。

これらの結晶多形および擬似多形の可能性に関する物理的情報に加えて、多塩基酸塩についてはモル比1 : 1および2 : 1(タモキシフェン : 多塩基酸)において同一

の結晶形が存在することが確認された。そこで、結晶形に関する物理的情報に加え、分子構造に関する化学的情報についてもラマン顕微鏡により精査した。一例として、タモキシフェン : クエン酸がモル比1 : 1および2 : 1からなるウェル中に認められた結晶のラマンスペクトルをFig. 2に示す。ラマンシフトが1595および1635cm⁻¹に特徴的なピークを示すスペクトルパターンをC1, 1598および1608cm⁻¹に特徴的なピークを示すスペクトルパターンをC2としてTable 2に記載した。スペクトルパターンC1およびC2は1613cm⁻¹に特徴的なピークをもつタモキシフェン(フリー体), 1693および1735cm⁻¹に特徴的なピークをもつクエン酸とは異なったことから、モル比1 : 1および2 : 1(タモキシフェン : クエン酸)からなるウェル中に認められた結晶はクエン酸塩であることが示唆された。また、他の有機酸についても塩の生成を確認し、Table 2に結果を記載した。さらに、タモキシフェン(フリー体)が次に示す組み合わせのウェル中に確認された ; イソプロピルアルコール中でモル比2 : 1(タモキシフェン : L-酒石酸), イソプロピルエーテル中でモル比2 : 1(タモキシフェン : L-酒石酸), アセトニトリル中でモル比2 : 1(タモキシフェン : フマル酸), 酢酸エチル中でモル比2 : 1(タモキシフェン : クエン酸), アセトン中でモル比2 : 1(タモキシフェン : コハク酸)。タモキシフェンはモル比1 : 1(タモキシフェン : 多塩基酸)からなる塩を優先的に生成し、モル比2 : 1からなるウェル中においては、塩を生成しなかった過剰量のタモキシフェン(フリー体)が析出したと推測される。以上の結果から、本実験で使用したすべてのカルボン酸塩について、モル比1 : 1からなる塩が優先的に生成することが推測された。

マルチウェルプレート上で得られた塩生成の優先性に関する情報の確実性を評価するため、クエン酸タモキシフェンおよびフマル酸タモキシフェンをいずれも300mgスケールで調製し、得られた結晶について粉末X線回折測定および熱重量測定により結晶形の確認を、またイオンクロマトグラフィーによりモル比(タモキシフェン : 有機酸)の確認を行った。まず、クエン酸タモキシフェンのモル比1 : 1および2 : 1(タモキシフェン : クエン酸)の結晶を調製し、96ウェルプレートによる塩の調製で使用した12種類の溶媒から再結晶した。その結果、モル比1 : 1(タモキシフェン : クエン酸)とモル比2 : 1において2種類の同一結晶形が粉末X線回折パターンにより確認された(Fig. 3)。

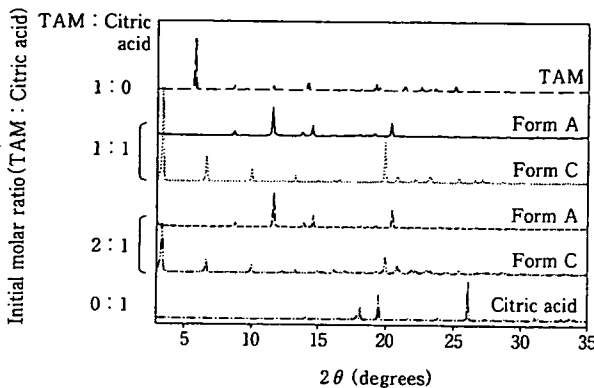


Fig. 3 PXRD patterns of TAM citrate prepared with TAM and citric acid (1 : 1 and 2 : 1) on a large scale.

熱重量測定の結果、C形結晶は溶媒和物であることが示唆されたため、A形結晶についてモル比を分析した。イオンクロマトグラフィーによる分析の結果、モル比1 : 1および2 : 1(タモキシフェン:クエン酸)から調製したA形結晶のクエン酸/タモキシフェンのモル比は、それぞれ1.01および0.99であった。これらの結果から、得られた結晶はモノクエン酸タモキシフェン(モル比が1 : 1)であることが示唆された。フマル酸タモキシフェンにおいても同様にモノフマル酸タモキシフェンであることが確認された。この結果は96ウェルプレート法から得られた情報である、モル比1 : 1の塩がモル比2 : 1の塩と比較して優先的に生成するという知見と合致した。

以上の結果から、96ウェルプレートを使用した有機酸塩のスクリーニングにおいて、既知の結晶多形に関する物理的情報だけでなく、生成する塩の化学量論に関する化学的情報も得られることが新たに確認された。

3. ラマン顕微鏡を用いた塩・結晶多形スクリーニング法の医薬品開発への応用

本項では、筆者らが開発したラマン顕微鏡を用いたスクリーニング法を実際の医薬品開発に応用した例を紹介する²⁴⁾。セロトニン5-HT_{2A}受容体アゴニストである化合物Aは結晶性の両性イオン化合物であり、開発初期段階において合成された原薬結晶ZW-IIは、25℃/60%RHにおいて6カ月間で、また25℃/75%RHでは数日間で吸湿後、水和物ZW-IVに転移することが確認されている(Table 3)。さらに、ZW-IVは含水率が約21%であることから、原薬ZW-Iの保存期間中に吸湿に伴う重量増加が生じ、秤量値設定が困難となることが予想された。そ

Table 3 Physicochemical Properties of ZW- I²⁴⁾

Melting Point	176.9℃
Polymorphism and Pseudopolymorphism	2 polymorphs (ZW- I and ZW- II)
Chemical stability	2 hydrates (ZW- III and ZW- IV)
Physical stability	Stable at 70℃/75%RH for 10days
	Transformed to hydrate ZW- IV at 25℃/75%RH within a few days

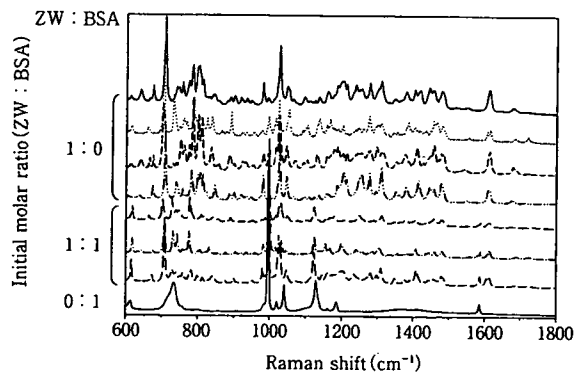


Fig. 4 Raman spectra of compound A as zwitter ion (ZW : BSA=1 : 0), besylate salt (ZW:BSA=1 : 1) and benzenesulfonic acid (ZW : BSA=0 : 1) crystals on a 96-well plate²⁴⁾.

こで原薬結晶の吸湿性の問題を解決するため、ラマン顕微鏡を用いた塩・結晶多形のスクリーニングを実施した。

まず両性イオン化合物Aに対して15種類の酸および12種類の結晶化溶媒を使用して96ウェルプレート上で塩の調製を行った。本スクリーニングでは多塩基酸塩についてはモル比1 : 1および2 : 1(化合物A : 多塩基酸)にて調製を行ったため、化合物Aと酸の組み合わせは合計22種類に相当する。塩の調製後、偏光顕微鏡下で確認された結晶について、ラマン顕微鏡により分析を行い、別途測定した化合物A(ZW-I)、使用した酸のスペクトルと比較を行った。Fig. 4にベンゼンスルホン酸(BSA)との組み合わせから得られたラマンスペクトルを示す。ラマンスペクトルの結果から、化合物A(ZW : BSA=1 : 0)には4種類の結晶多形の存在が示唆された。また、化合物A、ベンゼンスルホン酸(ZW : BSA=0 : 1)と比較することにより、ベンゼンスルホン酸塩(ZW : BSA=1 : 1)の生成が確認され、さらにベンゼンスルホン酸塩については3種類の結晶多形の存在が示唆された。同様にすべての結晶について比較、分類を行った結果をTable 4にまとめた。本結果から9種類の結晶性塩の形成の可能性が示唆された。また、フマル酸塩の同一結晶がモル比1 : 1および2 : 1からなるウェル中において、フマル酸結晶がモル比1 : 1からなるウェル中において

Table 4 Raman Spectra Classification of Salts on 96-Well Plates²⁰⁾

Counter acids	ZW:CA	pKa	Solvents											Polymorphs		
			MeOH	EtOH	IPA	MeCN	Acetone	EtOAc	IPE	THF	Toluene	DCM	cHex		W/A	
HCl	1:1	-6.1														-
H ₂ SO ₄	1:1	-3.0														4
	2:1	-3.0, -2.0														-
ESA	1:1	-2.0														1
	2:1	-2.0, -1.5														1
MSA	1:1	-12														-
CSA	1:1	-12														1
BSA	1:1	1.6														3
PA	1:1	2.0														2
TA	1:1	3.0														-
	2:1	3.0, 4.4														-
FA	1:1	3.0														2
	2:1	3.0, 4.4														3
CiA	1:1	3.1														-
	2:1	3.1, 4.8														-
GA	1:1	3.8														-
MA	1:1	3.5														-
	2:1	3.5, 5.1														-
LA	1:1	3.9														-
SA	1:1	4.2														1
	2:1	4.2, 5.6														-
AA	1:1	4.8														1
ZW	1:0	2.8, 9.2														4

Abbreviations used in the figure ; ZW : zwitterion, CA : counter acid, ESA : 1,2-ethanedisulfonic acid, MSA : methanesulfonic acid, CSA : Camphorsulfonic acid, BSA : benzenesulfonic acid, PA : phosphoric acid, TA : Ltartaricacid, FA : fumaric acid, CiA : citric acid, GA : gluconic acid, MA : L-malic acid, LA : L-lactic acid, SA : succinic acid, AA : acetic acid, MeOH : methanol, EtOH : ethanol, IPA : isopropyl alcohol, MeCN : acetonitrile, EtOAc : ethyl acetate, IPE : isopropyl ether, THF : tetrahydrofuran, DCM : dichloromethane, cHex : cyclohexane, WA : mixed solvent of isopropyl alcohol and water (v/v=1/1).
 Raman spectra were classified in oil or amorphous, □ zwitterion, ■ counter acid, and salt or cocrystal, ▣

Table 5 Physicochemical Properties of Salts²⁰⁾

Salts	Besylate	Camsylate	Daisylate	Succinate	Fumarate
Stoichiometry (Compound A : Acid)	1:1	1:1	2:1	1:1	2:1
Polymorphism	BSA-I (220)	CSA-I (188)	6 solvates	SA-I (111)	FA-I (137)
Modifications (Melting point, °C)	BSA-II (200)	CSA-II (hydrate)	(MeOH, EtOH, THF, DCM, Acetone, MeCN)*	SA-II (114)	FA-II (145)
	BSA-III (hydrate)			FA-III (162)	
Stability at 70°C/75%RH for 10 days					
Crystalline form	BSA-I	CSA-I	- ^b	SA-II	FA-III
Chemical stability	Potency >99%	Potency >99%	- ^b	Potency >99%	Potency >99%
Physical stability	Stable	Stable	- ^b	Unstable ^c	Unstable ^c

a Anhydrous form of hemi-edisylate salt was not obtained

b Not determined

c Transformed to ZW-IV (hydrate of zwitterion)

確認されたことより、化合物Aはヘミフマル酸塩を生成する可能性が示唆された。さらに、塩形成の有無と酸のpKaを比較したところ、化合物AはpKa > 3の酸とは塩生成をしない傾向が認められたが、コハク酸(pKa=4.2, 5.6)については複合体生成を示唆するラマンスペクトル

が認められ、共結晶が生成している可能性が示唆された。

次に、ラマン顕微鏡を用いたスクリーニングの結果に基づき、ベンゼンスルホン酸塩、カンファースルホン酸塩、モノ硫酸塩、ヘミエタンジスルホン酸塩、ヘミフマル酸塩、モノクエン酸塩のスケールアップ調製を行い、

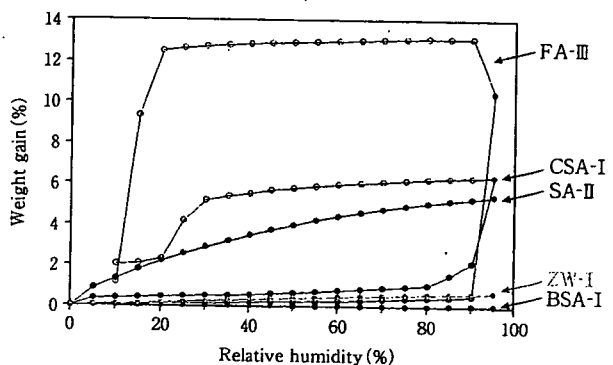


Fig. 5 Sorption/desorption step-isotherm for water vapor on various salts²⁴⁾. (●) : sorption, (○) : desorption.

物性評価を行った。結晶多形スクリーニング、温度・湿度に対する安定性試験の結果 (Table 5) および水蒸気自動吸脱着測定の結果 (Fig. 5) から、ベンゼンスルホン酸塩のBSA-I結晶が選択された。さらに詳細な検討の結果、ベンゼンスルホン酸塩のBSA-I結晶は25℃/60%RH条件下においては1年間以上、また25℃/84%RH条件下1カ月後においても水和物への転移は認められず、ZW-Iと比較して安定性の向上が確認された (Fig. 6)。

おわりに

本稿ではマルチウェルプレートを用いた塩のスクリーニングにラマン分光法を応用することにより、小スケール (100mg以下) の化合物量で結晶多形に関する物理的情報だけでなく多塩基酸塩の化学量論に関する化学的情報も得られることを紹介した。多塩基酸や多酸塩基から構成される塩は複数のモル比の組み合わせが可能である。例えば、塩基性医薬品化合物の多塩基酸塩の場合、1 : 1 (医薬品 : 多塩基酸) 塩の場合もあれば、2 : 1 塩を形成する場合もある。結晶選択の過程において、モル比 1 : 1 や 2 : 1 のような組み合わせの異なる塩は物性プロファイルが異なる²⁵⁾ ことから、可能性のあるモル比 1 : 1, 2 : 1 の両化合物を合成し、評価することが一般的である。本スクリーニングでは化学量論に関する情報が早期に得られるため、合成、評価の効率化が可能となる。ラマン分光法の特徴を活かした本スクリーニング法は、塩・結晶多形スクリーニングだけでなく、医薬品候補化合物と製剤添加物とのモル比が複数考えられる共結晶についても適用が可能であることから、医薬品開発における結晶形選択のさらなる効率化を可能とするツールとして期待される。

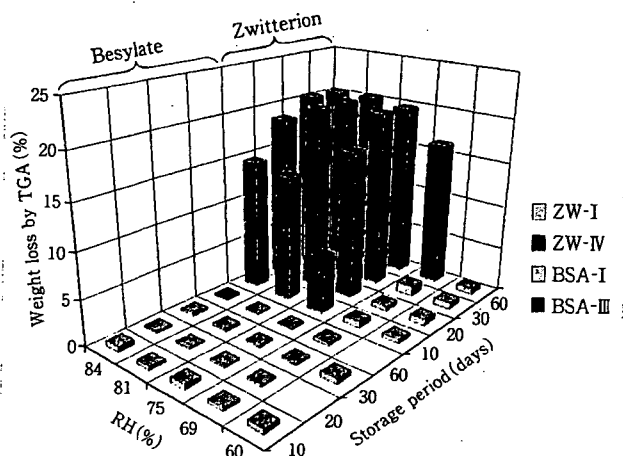


Fig. 6 Results of physical stability of ZW-I of zwitterion and BSA-I of besylate salt²⁴⁾.

参考文献

- 1) Aguiar, A. J., Krc, J., Jr., Kinkel, A. W., Samyn, J. C. : Effect of polymorphism on the absorption of chloramphenicol from chloramphenicol palmitate, *J. Pharm. Sci.*, **56**, 847-53 (1967)
- 2) Poole, J. W., Owen, G., Silverio, J., Freyhof, J. N., Rosenman, S. B. : Physicochemical factors influencing the absorption of the anhydrous and trihydrate forms of ampicillin, *Curr. Ther. Res. Clin. Exp.*, **10**, 292-303 (1968)
- 3) Henck, J. O., Bernstein, J., Ellern, A., Boese, R. : Disappearing and reappearing polymorphs, The benzocaine-picric acid system, *J. Am. Chem. Soc.*, **123**, 1834-41 (2001)
- 4) Morris, K. R., Griesser, U. J., Eckhardt, C. J., Stowell, J. G. : Theoretical approaches to physical transformations of active pharmaceutical ingredients during manufacturing processes, *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, **48**, 91-114 (2001)
- 5) Kojima, T., Onoue, S., Katoh, F., Teraoka, R., Matsuda, Y., Kitagawa, S., Tshako, M. : Effect of spectroscopic properties on photostability of tamoxifen citrate polymorphs, *Int. J. Pharm.*, **336**, 346-51 (2007)
- 6) Kojima, T., Kato, F., Teraoka, R., Matsuda, Y., Kitagawa, S., Tshako, M. : Physicochemical characterization of tamoxifen citrate pseudopolymorphs, ethanolate and methanolate, *Chem. Pharm. Bull.*, **55**, 407-11 (2007)
- 7) Knapman, K. : Polymorphic predictions, *Modern Drug Discovery*, **3**, 53-54, 57 (2000)
- 8) Chemburkar, S. R., Bauer, J., Deming, K., Spiwek, H., Patel, K., Morris, J., Henry, R. : Dealing with the impact of ritonavir polymorphs on the late stages of bulk drug process development, *Org. Process Res. Dev.*, **4**, 413-17 (2000)
- 9) Price, S. L. : The computational prediction of pharmaceutical crystal structures and polymorphism, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **56**, 301-19 (2004)
- 10) Gu, C. H., Young, V., Jr., Grant, D. J. : Polymorph screening : Influence of solvents on the rate of solvent-mediated polymorphic transformation, *J. Pharm. Sci.*, **90**, 1878-90 (2001)
- 11) Peterson, M. L., Morissette, S. L., McNulty, C., Goldsweig, A., Shaw, P., LeQuesne, M., Monagle, J., Encina, N., Marchionna, J., Johnson, A., Gonzalez-Zugasti, J., Lemmo, A. V., Ellis, S. J., Cima, M. J., Almarsson, O. : Iterative high-throughput polymorphism studies on acetaminophen and an experimentally derived structure for form III, *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 10958-9 (2002)

- 12) Morissette, S. L., Soukasene, S., Levinson, D., Cima, M. J., Almarsson, O. : Elucidation of crystal form diversity of the HIV protease inhibitor ritonavir by high-throughput crystallization, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 100, 2180-4(2003)
- 13) Carlson, E. D., Chandler, W. J., Chau, H. K., Cong, P., Crevier, T., Desrosiers, P. J. : An integrated high throughput workflow for pre-formulations : Polymorph and salt selection studies, *Pharma, Chem.*, 10-15(2003)
- 14) Almarsson, O., Hickey, M. B., Peterson, M. L., Morissette, S. L., Soukasene, S., McNulty, C. : High-throughput surveys of crystal form diversity of highly polymorphic pharmaceutical compounds, *Cryst. Growth Des.*, 3, 927-33(2003)
- 15) Remenar, J. F., MacPhee, J. M., Larson, B. K., Tyagi, V. A., Ho, J. H. : Salt selection and simultaneous polymorphism assessment via high-throughput crystallization : The case of sertraline, *Org. Process Res. Dev.*, 7, 990-96(2003)
- 16) Gu, C. H., Li, H., Gandhi, R. B., Raghavan, K. : Grouping solvents by statistical analysis of solvent property parameters : Implication to polymorph screening, *Int. J. Pharm.*, 283, 117-25(2004)
- 17) Morissette, S. L., Almarsson, O., Peterson, M. L., Remenar, J. F., Read, M. J., Lemmo, A. V., Ellis, S., Cima, M. J., Gardner, C. R. : High-throughput crystallization : Polymorphs, salts, co-crystals and solvates of pharmaceutical solids, *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, 56, 275-300(2004)
- 18) Ware, E. C. Lu, D. R. : An automated approach to salt selection for new unique trazodone salts, *Pharm. Res.*, 21, 177-84(2004)
- 19) Desrosiers, P. J. : The Potential of Preform, *Modern Drug Discovery*, 7, 40-43(2004)
- 20) Vishweshwar, P., McMahon, J. A., Bis, J. A., Zaworotko, M. J. : Pharmaceutical co-crystals, *J. Pharm. Sci.*, 95, 499-516(2006)
- 21) Gilmore, C. J., Barr, G., Paisley, J. : High-throughput powder diffraction. I. A new approach to qualitative and quantitative powder diffraction pattern analysis using full pattern profiles, *J. Appl. Cryst.*, 37, 231-42(2004)
- 22) Storey, R., Docherty, R., Higginson, P., Dallman, C., Gilmore, C., Barr, G., Dong, W. : Automation of solid form screening procedures in the pharmaceutical industry—How to avoid the bottlenecks, *Crystallography Reviews*, 10, 45-56(2004)
- 23) Kojima, T., Onoue, S., Murase, N., Katoh, F., Mano, T., Matsuda, Y. : Crystalline form information from multi-well plate salt screening by use of Raman microscopy, *Pharm. Res.*, 23, 806-12(2006)
- 24) Kojima, T., Sugano, K., Onoue, S., Murase, N., Sato, M., Kawabata, Y., Mano, T. : Solid form selection of zwitterionic 5-HT₁ receptor agonist, *Int. J. Pharm.*, in press
- 25) Giron, D. : Characterisation of salts of drug substances, *J. Therm. Anal. Cal.*, 73, 441-57(2003)

私共は滅菌保証のためのバイオリジカルインディケータ(米国・NAMSA社)を中心に、滅菌やその周辺をサポートするための世界で最も評価されている商品を取り扱っております。

- NAMSA社はISO9001及びEN46001の認証を受けております。
- NAMSA社の研究所は米国食品医薬品局(FDA)に登録されております。

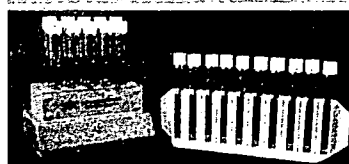
SPORTROL 米国・NAMSA社 バイオリジカルインディケータ



- ISO, USP, AAMI, EN等の基準に合致しております。
- 各種の滅菌用と菌数が豊富に取り揃っております。
- 各種共にクロマトペーパーに塗布されたストリップタイプと10mLのサスペンションタイプを用意しております。
- 全ての商品にD値などを記載した成績書を添付しております。

滅菌法	菌子名	ATCC
EO滅菌	Bacillus atrophaeus	9372
乾熱滅菌	Bacillus atrophaeus	9372
蒸気滅菌	Geobacillus stearothermophilus	7953
放射線滅菌	Bacillus pumilus	27142

培地(カルチャーメディア) スポアーストリップ、スポアードisktタイプ



商品コード CM-100 商品名 TSB(SCDB)培地

- BIの培養に最適な培地です。
- 滅菌が不適切な場合には培地が紫から黄色に変色し、芽胞の増殖(濁り)が見られます。

SPORTROL 米国・NAMSA社 培地性能試験用菌液

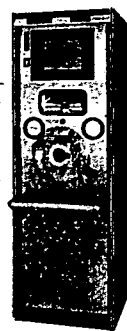
無菌製品製造に携わる人々にとりましてやっかいなことのひとつが培地性能試験菌の選定であります。NAMSA社の懸濁液はすべてUSPの基準に従って製造されております。

商品名	菌種	ATCC #
GP-01	Bacillus subtilis	6633
GP-02	Clostridium sporogenes	11437
GP-03	Candida albicans	10231
GP-04	Aspergillus niger	16404
GP-05	Kocuria rhizophila(# 1)	3341
GP-06	Geobacillus stearothermophilus(# 2)	7953
GP-07	Pseudomonas aeruginosa	9027
GP-08	Staphylococcus aureus	6538
GP-09	Escheria coli	8739
GP-10	Bacillus atrophaeus(# 3)	9372
GP-11	Salmonella typhimurium	14028



米国・STERIS JOSLYN社 生物指標抵抗性評価装置 BIER (Biological indicator evaluator resistometer)

ISO(国際標準化機構)11138-2,3及びAAMI ST 34に適合するBIERシステムでバイオリジカルインディケータのD値測定用装置です。このBIERはISO及びAAMIで規定した高精度に再現性のある環境を提供するシステムで微生物学的にも理論的にも統一された方法での抵抗性評価システムです。EOG用BIERシステムと蒸気用BIERの2機種を用意しております。



販売元



株式会社センコム

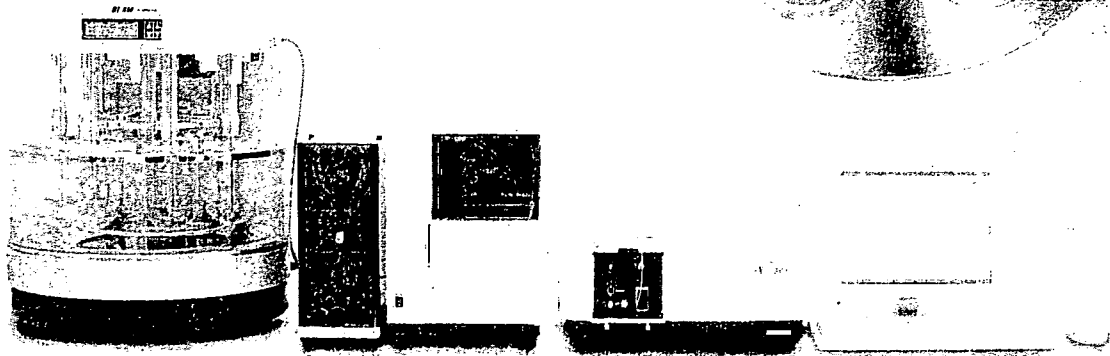
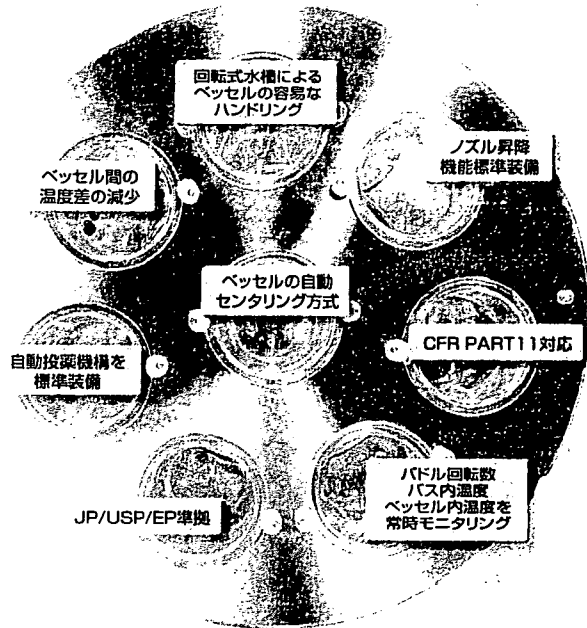
〒110-0016 東京都台東区台東4丁目1番9号 | S-1ビル
TEL 03-3839-6321(代) FAX 03-3839-6324
E-mail : info@senkom.com
URL : http://www.senkom.com

DM資料請求カードNo.32

JASCO Corporation

Windowsによるシステム制御がもたらす 8連溶出試験器の新たなスタイル

DT-810システムは、JP、USPおよびEPの試験法に対応した溶出試験システムです。温度安定性の高い円形バス、ベッセルとシャフトの中心軸を一致させる独自のセンタリング機構、充実したモニタリング機能、ベッセル精度の向上により、信頼性の高い試験を行うことができます。システム制御およびモニタリング表示は、CFR対応の専用プログラム※を用いてPCから行うため、操作が簡便で分かりやすく、システムの状態や作業状況を確認しながら試験を進めることができます。試験方法や用途に応じて、3種類のシステムがあります。



DT-810 フラクションフローシステム

DT-810 Dissolution Tester

DT-810 溶出試験器

DT-810 フラクションフローシステム

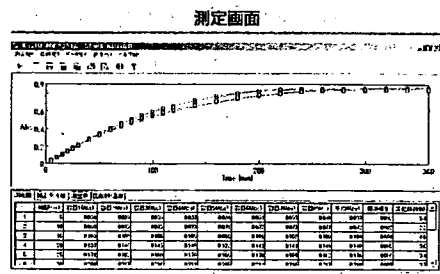
リキッドハンドリングユニット(フラクションコレクタ)により採取した試験液の一部を分光光度計で測定するシステムです。分光光度計測定後も試験液が残りますので、試験液に対して複数の評価・測定を行いたい場合に有効です。補充溶媒と流路洗浄液を特定のベッセルまたは外部から導入する機能を標準で備えています。

DT-810 フローシステム

8連フローセルにより、8ベッセル中の試験液について分光光度計による測定が行えます。フローシステムは2種類のリキッドハンドリングユニット(ペリスタポンプ)からお選び頂けます。試験液の循環測定用の流路のみシンプルなタイプと、標準試料や流路洗浄液を外部から導入できるタイプがあります。

DT-810 フラクションシステム

各ベッセルで最大20mlの試験液を12回まで採取することができます。補充溶媒と流路洗浄液を特定のベッセルまたは外部から導入する機能を標準で備えています。



DT-810システムでは各ユニットの制御を専用プログラムから行います。各種モニタリング表示もPCを主体で行いますので、システムの状態や作業の進捗状況を確認しながら試験を進めることができます。

※ CFR対応および非対応のプログラムをご用意しています。

●記載されている製品の仕様は予告なく変更することがあります。

JASCO は日本分光株式会社の登録商標です。

光と技術で未来を見つめる

日本分光

JASCO 日本分光株式会社

〒192-8537 東京都八王子市市川町2967-5
PHONE 0426 (46) 4111 (代表)
FAX 0426 (46) 4120 <http://www.jasco.co.jp/>

北海道S-C 011(741)5285
北日本S-C 03(3294)0345
筑波S-C 029(857)5721
東京S-C 03(3294)0341
西東京S-C 0426(46)7001

神奈川S-C 045(989)1711
名古屋S-C 052(452)2671
大阪S-C 06(6312)9173
広島S-C 082(238)4011
九州S-C 092(588)1931

ISO14001 ISO9001
JSAE 024 JQA 0777

Reprinted from
JOURNAL OF
the Society of Powder Technology
Japan
Vol. 44 No. 5 PP 367 ~ 376

粉体工学会誌 抜刷

第44巻 第5号

(35)~(44) ページ

2007年

解 説

Review

固体医薬品の安定性評価—光安定性を中心として—

**Evaluation of Stability of Solid Pharmaceutical Drugs :
From the Viewpoint of Photostability**

松田 芳久

Yoshihisa Matsuda

固体医薬品の安定性評価—光安定性を中心として—

Evaluation of Stability of Solid Pharmaceutical Drugs :
From the Viewpoint of Photostability

松田 芳久

Yoshihisa Matsuda

The photolytic degradations of photolabile solid drugs are very complex and therefore difficult to quantitatively analyze the results because they are typical topochemical reactions differing from those in aqueous media. In this article, based on the results of several works performed by the authors, some essential and important problems and factors (e. g., effects of temperature, humidity, irradiation wavelength and intensity of light source, particle size, crystal forms) for rational evaluation of photostability of these drugs are presented and extensively discussed.

Keywords : Photolabile drug, Photostability, Polymorph, Crystal form

1. はじめに

「くすり」は原薬のまま投与したり服用されることなく、必ず製剤の形で用いられる。医薬品の製剤化の目的は、医薬品の安全性や安定性を十分に確保するとともに、患者に投与される際には製剤としての適用性（服用性）を考慮しつつ、体内で薬効を最大限に発揮させることにある。

ところで、最近、高度な薬理活性をもつ優れた医薬品が開発されるにつれて、これらの製剤化の過程におけるプレフォーミュレーション（予備処方化設計）の重要性に対する認識がますます深まっている。製剤研究の源流に位置づけられるプレフォーミュレーション段階では、原薬の基本的な物性である物理薬学的及

び生物薬剤学的特性などを明らかにするとともに、望ましくない特性を改善し、これらの情報に基づいた最適な剤形のプロトタイプを設計することを目的としている。医薬品の開発過程では、一般に膨大な化合物の中からスクリーニングによってごく少数の候補物質が選択されるが、最終剤形のいかんを問わず、化合物の大多数は結晶状態で取り出されている状況に鑑みると、結晶や粉体状態での原薬の物性を詳細かつ的確に把握しておくことは、その後の開発計画を円滑に進める上においてきわめて重要である。実際に、開発を急ぐあまり、プレフォーミュレーション過程での検討が不十分となり、思わぬ事態発生のために開発計画に狂いを生じたり、余計な経費や時間を浪費してしまったという話は、時々、耳にするところである。このため、米国薬局方（USP）では、製剤の *in vitro*-*in vivo* 評価を行う際の際の原薬の物理化学的特性の重要性が強調されている。したがって、適切な情報の収集とその解析は、固形製剤のような不均一系製剤の開発においてはとくに重要である。

また、医薬品を一つの有機化合物として眺めた場合、いずれも複雑な化学構造をもっているため、製剤工程中や製剤化された後でも種々の環境因子（機械的外力、温度、湿度（水分）、酸素、光など）に対して不安定であり、化学的あるいは物理的変化をきたすものが少なくない。特に、前者の場合には、分解物の生成による有効性の低下だけでなく副作用の発生の恐れ

2007年3月12日受付

神戸薬科大学

(〒658-8558 神戸市東灘区本山北町4-19-1) TEL 078-441-7526

Kobe Pharmaceutical University

(Motoyama, Higashinada, Kobe 658-8558, Japan)

< 著者紹介 >

昭和39年京都薬科大学薬学部卒業。昭和41年京都大学薬学部助手、昭和47年神戸女子薬科大学（現 神戸薬科大学）講師、助教授を経て昭和57年教授（製剤学）。薬学博士。粉体工学会評議員。平成18年定年。現在、特別教授、名誉教授。

専門：結晶及び粉体レベルからみた固体医薬品の安定性評価と安定化のための製剤設計、製剤工学



もあるため、製剤研究における客観的な安定性の評価及び、この結果に基づいた合理的な安定化のための製剤設計や包装設計は、有効性の改善や向上とともに必須の要件である。

本稿では、広範囲な安定性研究の中で報告例の極めて少ない固体医薬品の光安定性に焦点を絞り、筆者らの研究成果を中心にして、安定性評価におけるいくつかの問題点について解説する。

2. 安定性の考え方と評価条件

2.1 公定書における安定性の定義

医薬品は人の健康の維持と疾病の治療に深く関与しているため、種々の法律やガイドライン、ガイダンス等、薬事行政機関によって厳しい規制と指導を受けており、各国（地域）とも重要な医薬品については品質の恒常性を担保するための規格を定めた公定書（薬局方）を発行している。前述の USP¹⁾ では有効期間内での製剤の安定性に関する考え方が述べられているが、これによると安定性は次の五つの広範囲な観点から取り扱われている。

- ①化学的安定性（有効成分の化学的純度の変化）
- ②物理的安定性（外観、含量均一性、溶出性、分散性など）
- ③微生物学的安定性（無菌性、微生物の増殖に対する抵抗性、抗生物質の力価の低下など）
- ④薬効学的安定性（保存製剤の経時的バイオアベイラビリティの低下など）
- ⑤毒性学的安定性（分解生成物や異物による副作用の発現、刺激性など）

2.2 安定性の評価条件

前項の主として①及び②に関して、ICH（日米 EU 医薬品規制調和国際会議）での合意に基づき、我が国においても安定性試験ガイドラインが厚生労働省によって改定された²⁾。本ガイドラインは、新原薬と新製剤について、世界的規模での単一の規格及び試験方法の設定を促進することを目的としている。これによれば、原薬及び製剤の製造承認申請にあたっては以下のような概要の試験が必要となる。ただし、中間的試験、苛酷試験は必要に応じて実施する。

①長期保存試験

目的：表示された貯蔵条件下に原薬及び製剤が保存された場合に、その有効期間にわたって品質が維持されることを実証するために行う。

保存条件：25 ± 2℃/60 ± 5% RH 又は 30 ± 2℃

/65 ± 5% RH

ロット数：3ロット以上

試験期間：最終的には表示する有効期間以上。申請時には少なくとも12カ月

②中間的試験

保存条件：30 ± 2℃/65 ± 5% RH

ロット数：3ロット以上

試験期間：6カ月以上

③加速試験

目的：原薬及び製剤がその有効期間にわたって表示された貯蔵条件に保存された時の安定性を、短期間の試験によって予測することによって、長期保存試験の結果を支持するためのデータを得るために行う。

保存条件：40 ± 2℃/75 ± 5% RH

ロット数：3ロット以上

試験期間：6カ月以上

④苛酷試験

目的：生成の可能性がある分解生成物を同定するとともに、それによって分解経路や医薬品本来の安定性を明らかにしたり、安定性試験に用いる分析方法の適合性を確認するために行う。

保存条件：加速試験の温度条件よりも10℃ずつ高くなっていく温度（例えば、50℃、60℃、..）及び適切な湿度（例えば、75% RH 以上）

ロット数：1ロット

なお、加速試験6カ月のいずれかの時点で規格値からの逸脱又はそれに相当する明確な品質変化がみられない（中間的試験）。また、加速試験又は中間的試験による成績は、輸送中に起こりえる貯蔵方法からの短期的な逸脱の影響を評価するために利用される。

⑤光安定性試験

1996年11月にICHにおいて合意された「光安定性試験ガイドライン」に基づいて、国際的に共通した試験が実施されている。

目的：新原薬及び新製剤が、曝光によって許容できない変化が起こらないことを示すために、これらが本来有する光に対する特性を評価する。

光源：以下に示すオプションの光源のいずれかを用いる。

ア オプション1

Table 1 Kinetic equations for the most common mechanism of solid-state reactions

Symbol	$g(x)$	Mechanism
R1	x	Zero-order mechanism (Polanyi-Winger equation)
R2	$[1-(1-x)]^{1/2}$	Two-dimensional phase-boundary mechanism
R3	$[1-(1-x)]^{1/3}$	Three-dimensional phase-boundary mechanism
F1	$-\ln(1-x)$	First-order mechanism
A2	$[-\ln(1-x)]^{1/2}$	Two-dimensional growth of nuclei mechanism (Avrami equation)
A3	$[-\ln(1-x)]^{1/3}$	Three-dimensional growth of nuclei mechanism (Avrami equation)
D1	x^2	One-dimensional diffusion mechanism
D2	$(1-x)\ln(1-x)+x$	Two-dimensional diffusion mechanism
D3	$[1-(1-x)^{1/3}]^2$	Three-dimensional diffusion mechanism (Jander equation)
D4	$(1-2x/3)-(1-x)^{2/3}$	Three-dimensional diffusion mechanism (Ginstilling-Brounshtein equation)

D65 (ISO 10997 (1993) に規定されている屋外の昼光の標準光源) 又は ID65 (D65 と同等の室内の間接的な昼光の標準光源) の放射基準に類似の出力を示すように設計された光源。

[例] 昼光色蛍光ランプ, キセノンランプ, ハロゲンランプ等。

イ オプション 2

ISO 10997 に類似の出力を示す白色蛍光ランプ及び所定の近紫外ランプ

光照射: 光安定性を確認するための試験 (確認試験) では, 総照度として 120 万 lx · h 以上及び総近紫外放射エネルギーとして 200W · h/m²

ロット数: 1 ロット

3. 固体反応速度論

3.1 反応速度式

溶液状態における薬物の分解については, 分解機構と反応速度論に基づいた理論式が誘導されており, これによって分解速度定数を定量的に算出することができる。しかし, 固体状態での薬物の分解 (特に後述する光分解) はトポケミカルな不均一系反応であり, 分子状態で存在する溶液中での反応よりも分解速度ははるかに小さい。したがって, その分解を理論的に表す速度式も溶液状態の分解よりはるかに複雑である。このため, 理論式の誘導が可能な場合には, これに従って速度定数を求めることができるが, 分解に及ぼす要因が複雑で分解機構が解明できない場合には理論式が誘導できないため, 種々の実験式 (経験式) が利用されている。Table 1³⁾ に固体反応速度論において汎用

されている主な理論式と実験式を示す。しかし, これらの理論は未だ十分に体系化されるまでには至っておらず, 広く応用できる確立された理論は現在でも存在しない。したがって, 固体状態での安定性を予測する場合に, 分解機構を完全に把握して数値的な処理を行うのは至難の技であるといえる。

3.2 分解速度の温度依存性

光分解においても分解速度の温度依存性を把握しておくことは, 製剤の保存条件を設定する際に重要である。分解速度定数に及ぼす種々の因子のうち, 温度の影響については古くからアレニウス式 Eq. (1) が適用され, 医薬品の安定性予測においても極めて有用であることが認められているが, この式は固体反応においても成立する。

$$\ln k = -E_a/RT + \ln A \quad (1)$$

したがって, 前項で述べた加速試験において数水準の温度条件における分解速度定数が得られれば, Eq. (1) を用いて室温下における安定性を予測することが可能である。ただし, この予測ができるのは Eq. (1) の頻度因子 A 及び活性化エネルギー E_a が実験温度範囲内で一定とみなせる場合であるが, 反応機構や試料の性状が変化すればこれらの値も当然変化するので, この関係は成立しなくなる。例えば, 極めて低い融点 (約 48℃) を示す心不全治療薬ユビデカレノンの光分解⁴⁾ においては, 試料が最初から液体状態にある場合にはアレニウス・プロットは全温度範囲で良好な直線性を示したのに対して, 固体試料の場合には融点以上の温度領域では融解して液体状態となるために, 融点にほぼ等しい 46℃ 付近で傾きの異なる 2 本の直線となる (Fig. 1)。このため, これらの直線の傾きから得

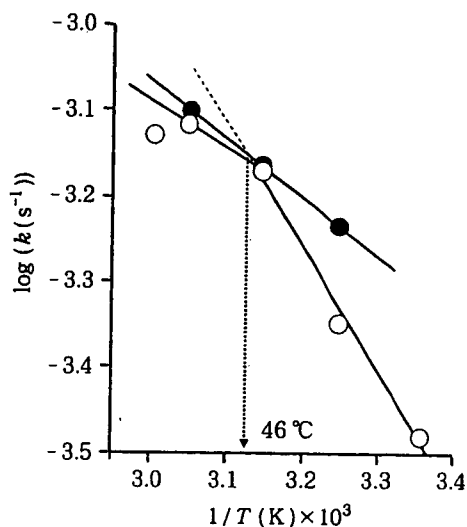


Fig. 1 Arrhenius plots for photolytic degradation in the solid- (○) and liquid-state (●) samples of ubidecarenone

られた固体状態及び液体状態における活性化エネルギーは、それぞれ 27.9 kJ/mol 及び 13.1 kJ/mol となり、液体状態の試料の方が低い値を示す。活性化エネルギーにおいて両者に相違が認められたのは、試料中での光吸収特性のほかに、反応に曝される分子の運動性も関係しているからである。また、皮膚潰瘍治療薬トレチノイントコフェリル⁵⁾や、骨・カルシウム代謝薬メナテロン⁶⁾については、活性化エネルギーはそれぞれ 11.2 及び 2.46 kJ/mol であった。これらの値は溶液中での分解反応（加水分解、酸化分解など）における数値に比べるとはるかに小さい。さらに、降圧薬ニフェジピン⁷⁾についても 4 水準の温度条件下における分解速度定数の間には有意な相違が認められず、活性化エネルギーは無視できることを踏まえると、光分解反応における温度依存性は一般に極めて低く、このことは医療現場では薬用保冷庫の中でも光分解が容易に進行することを示唆している。

3.3 分解速度の湿度依存性

固形製剤の変質の主な原因としては、保存中の吸湿による加水分解や製造工程の加熱操作における熱分解などが考えられる。温度に関しては前項で述べたように分解速度定数との間に明確な関数関係が成立するが、湿度は種々のメカニズムによって薬物の分解に影響を及ぼすため、分解速度定数に対する湿度の影響を一般的に表すことができる式はない。これまで経験的に Eq. (2) が用いられており、睡眠薬ニトラゼパム⁸⁾や抗生物質であるペニシリン類⁹⁾などの分解が温度及び相対湿度 RH の関数として整理できることが報告さ

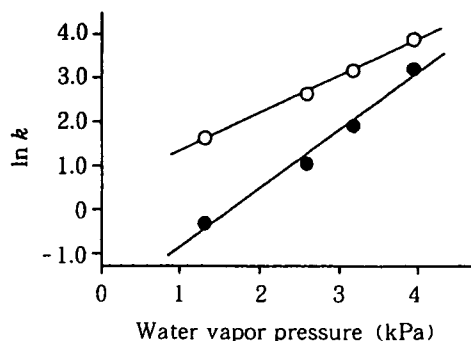


Fig. 2 Semilogarithmic plots of the effect of water vapor pressure on discoloration rate constant for compacts containing anatase form (○) and rutile form (●) of TiO₂

れている。

$$\ln k = -E_a/RT + \ln A' + B \cdot RH \quad (2)$$

これに対して、Yoshioka ら¹⁰⁾ は消化性潰瘍治療薬臭化プロパンテリンなどの固体状態での加水分解速度定数の湿度依存性について、水蒸気圧 P を導入した Eq. (3) によって説明できることを報告している。

$$\ln k = -E_a/RT + \ln k' + S \ln P \quad (3)$$

一方、筆者らは消化性潰瘍治療薬ファモチジン¹¹⁾や抗アレルギー薬メキタジン¹²⁾に照射した際に、添加剤である酸化チタンの存在下で湿度の影響を受けて着色変化¹¹⁾や光分解¹²⁾を起こすことを確認したが、これらの場合における着色速度定数や分解速度定数 k は水蒸気圧 P の関数 (Eq. (4)) として表され、これらのパラメータは酸化チタンの種類（すなわち、光触媒活性の違い）によって影響の受け方が異なることを認めている。Fig. 2 にファモチジンの場合における結果を示す。

$$\ln k = \ln k_0 + r \cdot \ln P \quad (4)$$

このように、相対湿度は温度によって変化するので、湿度の影響を定量的に考察する場合には、水蒸気圧の関数として整理するのが合理的である。

4. 固体医薬品の光安定性

4.1 光安定性の評価における問題点

光によって変化する薬物は多数報告されているが、その分解機構は極めて複雑である。光分解は一般に複雑な分解経路を示し、多数の分解物を生成する場合が多い。このため、前述の ICH における光安定性試験

法のガイドラインが最終合意されるまでは、光安定性情報に関する製薬メーカー各社の取扱いはまちまちであり、光安定性評価のための実験条件は企業間で十分な整合性が確認されているとはいえなかったのが実情である。これらの状況は、原薬の固体状態における光安定性を評価する際に、以下の難点が常に付きまとうことに関係している。

1. 光による医薬品の物性変化は、粒子表面又はその近傍に限定されたトポケミカル反応であること
2. 固体光化学反応には試料の大きさに起因する scale effect (後述) が関係するため、必然的に溶液系におけるような普遍的な分解率を定義できないこと
3. 光源によって照射強度や分光放射エネルギー分布が異なること
4. 医薬品についても分子構造に起因して光感受性において波長依存性を示すこと

これらの問題点を考慮して光安定性を評価する際に留意すべき実験項目をあげると、①光源の種類、②光源の強度及び分光放射エネルギー分布、③照射波長、④積算照射量、⑤試料の形状、大きさ(粒子径)、充填密度、表面状態など、⑥容器の素材(光透過性)などとなり、安定性評価に及ぼす実験条件は極めて多岐にわたり、かつ複雑である。

4.2 光安定性

4.2.1 物理化学的安定性

a. 着色現象における波長依存性

固体医薬品の光に対する挙動として外観変化(着色、変色など)と内部変化(化学的变化)があるが、両者の間には何らかの関係を有する場合が少なくない。したがって、肉眼によって容易に確認できる外観変化は第1選択の評価項目として有用であるが、評価基準や表示法については未だ公的な統一見解が出されるまでには至っていない。このような医薬品については、日本薬局方では性状の項において、例えば、“本品は光によって(徐々に)着色する”などという定性的な表現に留まっているのが現状である。

筆者らはこれらの医薬品のなかから8種類の試料を選び、回折格子型照射分光器によって300~475nmの波長範囲〔ガイドライン〕中でオプション2に該当する波長領域で同一強度の単色光を波長ごとに照射し、この際の錠剤表面の着色の波長依存性を検討した¹³⁾。この結果、着色の程度や安定性に及ぼす波長の影響は試料によって著しく異なることを認めた。光源

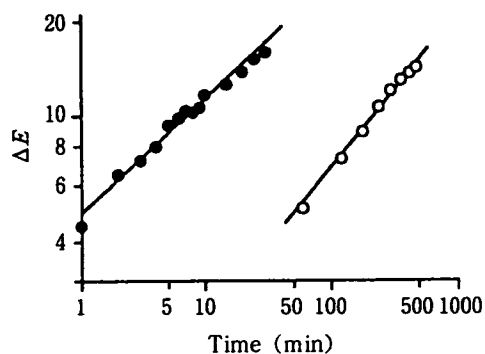


Fig. 3 The double-logarithmic plot for the color change process under mercury vapor lamp (●) and fluorescent lamp (○)

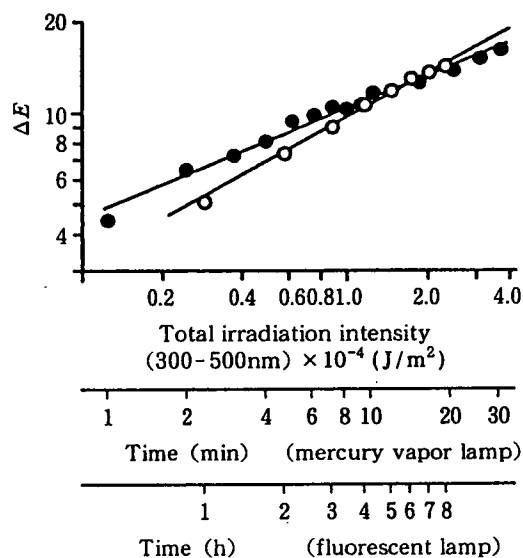


Fig. 4 The double logarithmic plot for the color change process based on the total irradiation intensity under mercury vapor lamp (●) and fluorescent lamp (○)

が異なると分光放射エネルギーも異なるので、このことは、光源の種類に依存してこれらの医薬品の着色度の順位も当然異なることを示している。事実、4種類の光源のもとで曝光させた場合の着色度の経時変化は、これらの光源下で必ずしも一致しなかった。これらの結果から、光安定性に関しては、温度の場合のように加速実験によって通常の照射条件下での安定性を予測することは一般には困難であるといえる。

b. 加速試験による光安定性予測の可能性

筆者らは光照射による着色度(色差 ΔE)の経時変化と照射時間 t との間に反応速度式に類似した Eq. (5) の関係(ただし、 k 及び n は定数)が広範囲に成立することを確認している¹³⁾。

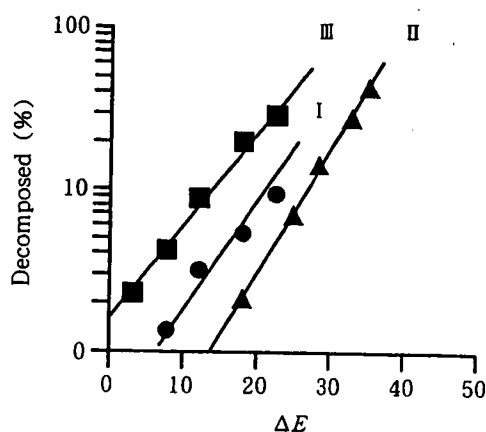


Fig. 5 Relationship between color difference (ΔE) and percent decomposition of carbamazepine polymorphs

$$d(\Delta E)/dt = k(\Delta E)^n \quad (5)$$

Eq. (5) を積分すると Eq. (6) となり、この式に基づけば両対数紙上で ΔE と t の間には直線関係が成立することになる。

$$\log \Delta E = [1/(1-n)] \log t + [1/(1-n)] \times \log [(1-n)k] \quad (n \neq 1) \quad (6)$$

一例として、光によって黄色から暗黄色へ変化するニフェジピン⁷⁾を、照射強度と分光放射エネルギーが異なる水銀ランプ (400W) と蛍光灯 (20W) で照射した場合、Fig. 3 のように、いずれの光源についても Eq. (6) に従って ΔE と t の間には良好な直線関係が成立したが、同一の照射時間後では測色色差計で測定した着色度 (ΔE) には当然極めて顕著な差異が認められた。しかし、このデータをニフェジピンの着色に関係する 300~500nm の波長範囲における両光源の積算照射エネルギーに換算してプロットし直すと、Fig. 4 のように両直線はほぼ一致した。すなわち、同一の医薬品については、その医薬品の着色 (又は分解) に関係する波長範囲における全照射エネルギーが同じであれば、たとえ光源が異なってもほぼ同一水準まで着色する。このような関係が成立する場合には、照射強度の大きい光源を用いた短時間の加速試験の結果から、通常の光源下における長時間照射後の着色状態を概略的に推測することが可能である。

外観変化と化学的変化の間に密接な関係が成立する場合もある。Fig. 5 は、多形現象 (後述) を示す抗てんかん薬カルバマゼピン¹⁴⁾ の 3 種類の結晶 (I~III 形) を圧縮成形した錠剤について、光照射した際の表面色の経時変化と、FT-IR 正反射スペクトル法に

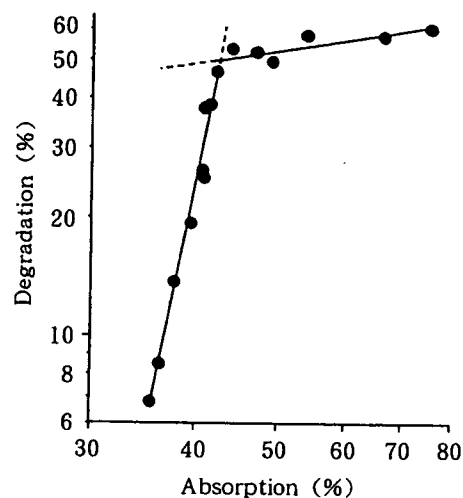


Fig. 6 Relationship between % degradation and % absorption of irradiated light energy

よって得られた検量線を用いて非破壊的に算出した錠剤表面における 2 次元分解率の関係を示す。両者の間には片対数紙上でいずれの結晶形についても良好な直線関係が成立しており、着色度 (色差) の変化によって化学的安定性を推測することができる。また、この結果は結晶形によって着色の程度が異なることも示している。

4. 2. 2 化学的安定性

a. 光吸収と分解

物質に光が吸収された場合、基本的には以下の四つの現象のうち、一つだけが起こるとされている¹⁵⁾。

1. 吸収した分子が分解する。
2. 光エネルギーは、これが化学的に利用されるまで保持されるか、または、分解の有無にかかわらず他の分子に伝達される。
3. エネルギーは熱に変換されるが、反応は起こらない。
4. 吸収した分子は種々の波長の光 (蛍光又はリン光) を放射するが、反応は起こらない。

有機医薬品の大半は、上記機構の 1. に基づいて分解する。しかし、これまで述べてきた種々の理由によって固体状態における光分解の定量的評価は一般には行いにくく、かつ、再現性は必ずしもよくない。したがって、信頼性のより高いデータを得るためには、粒子をできるだけ微細化し、かつ均一に分散させた状態で曝光させる必要がある。

Fig. 6⁴⁾ はユビデカレノンの希薄エーテル溶液をガラス板上に滴下した後、溶媒を蒸発させ、再結晶化した微細な試料に 200~500nm の一定強度の単色光を

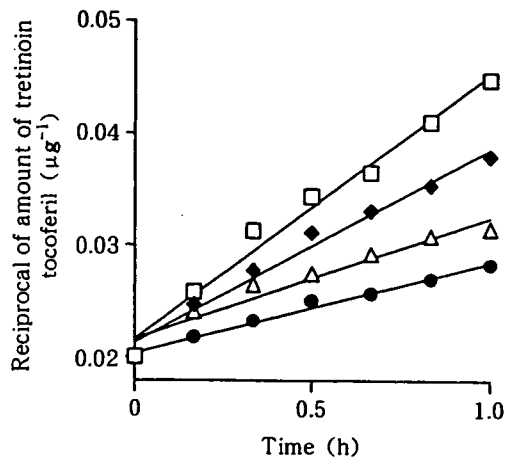


Fig. 7 Time-courses of photostability of tretinoin tocoferil at different illuminances by D65 fluorescent lamp.
illuminances (lx) : ● 1000, △ 2000, ◆ 3500, □ 5000

波長ごとに照射した際に、光エネルギー吸収率が分解率に及ぼす影響を示す。両者の関係は片対数紙上で良好な2本の直線で示されたが、吸収率が低い領域では分解率は吸収率に対して極めて鋭敏に対応したのに対して、吸収率が約43%を超えると分解率の増加は鈍化した。これは分解率の増加に伴う実質的な吸収率の低下に起因しているためであると考えられる。また、吸収率が30%以下では実質的には分解は起こっていない。このことは、結晶に光が吸収されても、光エネルギーは必ずしも分解に有効に利用されていないことを示唆しており、系内の温度を上昇させるにとどまっているものと推察された。

b. 光分解の速度論的取扱い

固体医薬品の光分解は不均一系反応の典型例の一つであり、利尿薬フロセミド¹⁶⁾のように、分解初期に誘導期をもつような、光に対して比較的安定な医薬品では、Table 1に示した固体化学反応式が適用できる場合がある。しかし、筆者らがこれまでに対象としてきた光に対して(極めて)不安定な医薬品の大半は、照射直後に若干の急激な残存率の低下が認められ、その後は見かけ上1次反応過程で整理できた。これらに対して、トレチノイントコフェリル⁵⁾のように、みかけ上2次反応過程に従って分解が進行する場合もある(Fig. 7)。

c. 波長依存性

光分解と薬物分子の紫外可視部吸収特性との間には密接な関係があり、その薬物の極大吸収波長から分解に影響を及ぼす波長を推測することが可能である。ニフェジピン結晶⁷⁾では分解による残存率は380nm付

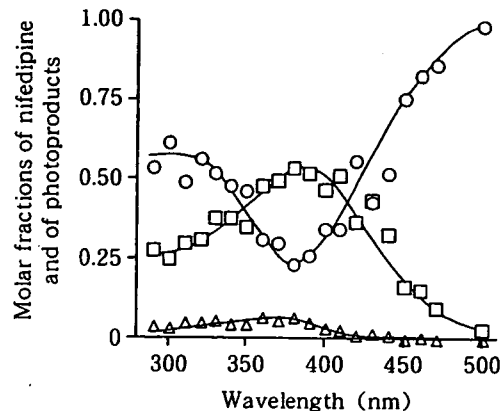


Fig. 8 Effect of wavelength on the photodegradation of nifedipine after exposure to light intensity of $5 \times 10^4 \text{ J/m}^2$
○; nifedipine, □; nitroso-derivative, △; nitro-derivative

近で極小値を示し、500nm付近の可視部光線によっても分解することが判明した(Fig. 8)。この結果は、ニフェジピンの光分解に及ぼす波長の影響のしかた¹⁷⁾にはほぼ一致していた。Fig. 8において380nm付近の臨界波長は、ニフェジピン分子中のニトロ基とジヒドロピリジン環に基づく特徴的な吸収帯(325~370nm)にきわめて近接していた。また、主な分解物であるニトロソ体とニトロ体のうち、前者の生成率はニフェジピンの分解波長に対応するような形で380nm付近に極大値を示し、可視部でもかなり高いレベルで生成したのに対して、後者は紫外領域の光のみによって選択的に生成し、420nm以上の可視光線ではもはや生成しなかった。また、トレチノイントコフェリルも420nm付近で極大分解率を示し、480nm付近の可視光線によっても分解した。このように、分解に及ぼす波長の影響は医薬品の分子構造と密接に関係し、まちまちであるので、光安定性の評価は外観変化の場合と同様に当然のことながら光源の種類によって異なることになる。したがって、光安定性を適切に評価するためには標準光源の設定はぜひ必要である。

d. 加速試験の可能性

光分解において加速試験を行うために照射強度の大きい光源を利用しなくても、蛍光灯を増設するか、または蛍光灯と試料間の距離を短縮することによって、照度を任意に調節することが可能である。この場合、光源が同じであれば、照射強度は照度に比例する⁶⁾。したがって、照度は温度の場合における熱エネルギーに対応することになり、分解速度定数の対数値と照度の逆数の間にはFig. 9のようにアレニウス・プロットと同様の整理が可能である^{5, 6, 18)}。この結果は、照度

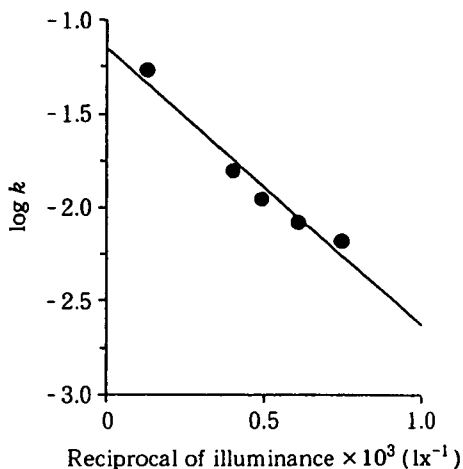


Fig. 9 Semilogarithmic plots of apparent degradation rate constant against the reciprocal of illuminance

を増大することによって短時間の実験結果から通常の照射条件下における安定性を定量的に予測することができることを明確に示しており、光に対して不安定な医薬品については本法の応用性は高いと思われる。なお、医薬品分野においては、蛍光灯を光源とする専用の光安定性試験器が市販され、汎用されている。

e. 結晶性及び結晶形の影響

複雑な分子構造をもつ有機医薬品のなかには同一の化学構造であっても結晶構造の異なるものがあり、これを結晶多形という。これは結晶内部での分子配列やコンホメーションの違いによって生じるものであるが、最近では医薬品の80%に結晶多形が存在するといわれており、例えば、フロセמידについては擬似多

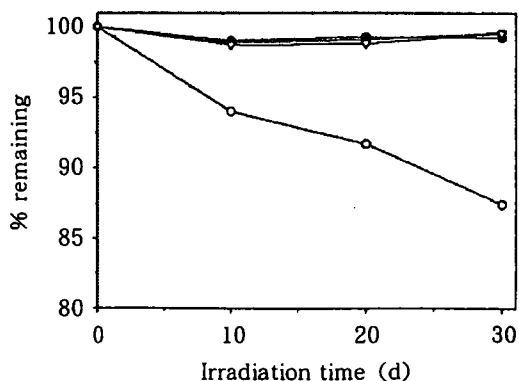


Fig. 10 Time-courses of the remaining percentage of forms A and B.
●, form A without light irradiation;
○, form A under light irradiation;
▼, form B without light irradiation;
▽, form B under light irradiation

形も含めて7種類の結晶形が確認されている¹⁹⁾。多形現象を示す医薬品では結晶形によって格子エネルギーが異なるので、溶解度が異なることが知られている。一方、結晶内での格子配列に規則性をもたない非晶質は溶解特性が大きく改善される（したがって、体内での吸収性の増大が期待できる）場合が多く、利用価値は高いが、その反面ではエネルギーレベルが高いために種々の環境因子によって結晶への転移などの物理化学的安定性や化学的安定性における問題点があり、製剤化において難点を有している。このような観点から、固形製剤を製造する場合には結晶形や結晶性の違いは、溶解度や溶解速度などの物理化学的特性のみならず化学的安定性にも影響を及ぼすので、原薬結晶の

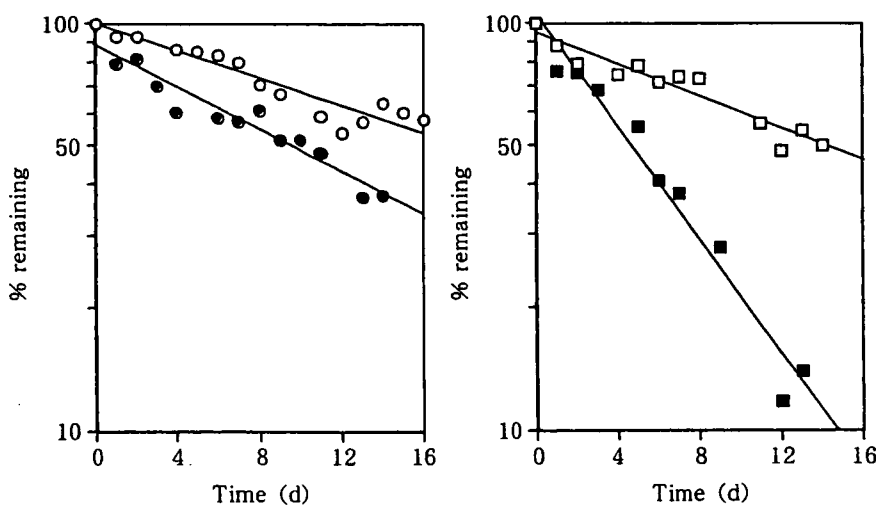


Fig. 11 Effect of grinding on the solid-state photostability of α - and β -forms of nicardipine hydrochloride
(○, ●): α -form; (□, ■): β -form. The open and closed symbols represent intact and ground powder for 150 min, respectively.

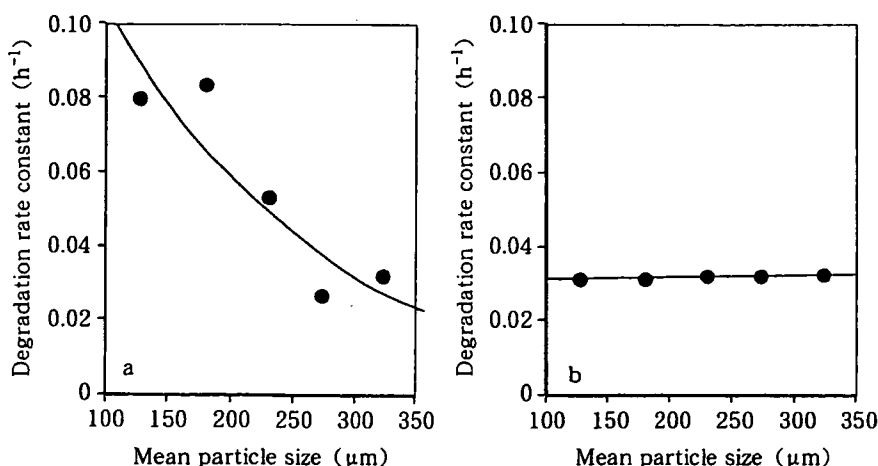


Fig. 12 Effect of particle size on the photodegradation rate constant of nifedipine powder and its tablet
a, powder ; b, tablet

晶析工程や結晶形の品質管理が極めて重要であるが、これらの化学的安定性に関しては筆者らによる研究以外には報告例はほとんど見当たらない。

フロセミド結晶のI形(安定形)は過酷照射条件でもほとんど着色せず、外観的には安定であったが、他の結晶形や擬似多形は著しく着色し、かつ結晶間で有意な相違が認められた¹⁹⁾。筆者らによって確認されたこのような光安定性の相違に着目して、Villiersら¹⁶⁾はフロセミドの光分解反応に核形成及び核成長過程からなる固体反応モデルを適用して解析した結果、I形とII形結晶の間で速度論的パラメータにおいて明確な差異を認めている。また、筆者らは乳がん治療薬であるクエン酸タモキシフェンについてもA形結晶(安定形)は光安定性に乏しかったのに対して、準安定形であるB形結晶は逆に極めて安定であるという、対照的な相違を認めた²⁰⁾(Fig. 10)。

降圧薬塩酸ニカルジピン²¹⁾にはα形とβ形の2種類の結晶形が存在するが、これらを振動ボールミルによって粉碎した試料は、いずれもほぼ非晶質状態となった。Fig. 11に示すように、錠剤表面での2次元残存率の経時変化は結晶間で著しく異なり、みかけの分解速度定数はβ形の方がα形よりやや大きかった。しかし、両者の差異は粉碎によって一層拡大され、β形の光安定性は顕著に低下した。これは両者の粉碎物における結晶格子配列のランダムネス状態に起因するためであり、融解熱が低下するにつれて分解速度定数が増大したことから、この薬物は結晶性が低下するほど熱力学的にも光化学的にも不安定になることを明確

に示している。

f. 粒子径の影響

ニフェジピンの結晶とこれを圧縮成形した錠剤について、FT-IR正反射スペクトル法により2次元分解速度定数を測定した¹⁹⁾(Fig. 12)。粒子状試料の場合には、粒子径の影響は明白であり、粒子径が増大するほど速度定数は逆に減少し、みかけ上、より安定化する傾向を示した。これに対して圧縮成形した場合には、表面が平滑であるために粒子径の影響は完全に消去され、粒子径のいかんにかかわらず速度定数は一定となった。したがって、光安定性を評価する際には、原薬レベル及び剤形レベルのいずれにおいても先に述べたscale effectを考慮することが重要であり²²⁾、どのような実験系を設定するかによって結果の評価が大きく異なってくることに十分に注意する必要がある。

5. おわりに

光に対して敏感な固体医薬品の安定性は、光源側に関係する因子に加えて、試験条件や試料の性状及び粉体物性によってかなり変動する可能性があるため、評価に際しては十分な科学的妥当性を踏まえて行う必要がある。また、このような医薬品の製剤開発においては、プレフォーミュレーション過程において得られた信頼性の高い結果に基づいて、安定化のための適切かつ合理的な製剤設計や包装設計を行うべきである。なお、これらの製剤設計については、文献²³⁾をご参照いただければ幸いである。