薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
104(9) 981-985 (1984)

薬物水溶液の凍結相における電気伝導度変化 (第2報¹⁾)

セファロチンナトリウム水溶液の凍結状態

井上正義,^{*,a} 島 和弘,^a 稲津邦平^b

塩野義製薬株式会社研究所,^a 塩野義製薬株式会社製造部^b

Changes in Electrical Conductivity of Various Drugs in Aqueous Frozen Phase. II.¹⁾ The Frozen State of Aqueous Solution of Cephalothin Sodium

MASAYOSHI INOUE,^{*,a} KAZUHIRO SHIMA,^a and KUNIHEI INAZU^b

Shionogi Research Laboratories, Shionogi & Co., Ltd.,^a Fukushima-ku, Osaka 553,

Japan and Production Department, Shionogi & Co., Ltd.,^b

Imafuku-192, Amagasaki, Hyogo 660, Japan

(Received February 20, 1984)

The electrical conductivity (conductivity) of cephalothin sodium (KF) in the aqueous frozen phase was measured at increasing temperature with varying concentrations. Above concentration of 5.0%, a sharp increase in the conductivity was found at -18 — -22°C . This phenomenon occurred during rewarming after recooling from -5°C to -50°C . On the other hand, below concentration of 1.5%, the conductivity fell after a rise with increasing temperature. This change of conductivity did not occur during rewarming. A sharp increase in the conductivity was found to correspond to the small endothermic peak of DSC. The concentration dependence of pH of KF in the aqueous solution was measured to demonstrate micelle formation. It may be attributed to the micelle formation that changes of the conductivity of KF in the aqueous frozen phase depend on the concentration of KF. The heat of solution of a drug easily capable of spontaneous nucleation and crystallization in the aqueous frozen phase was compared with that of a drug hardly capable of such a transformation: it was found out that a drug having a low heat of solution hardly transform to crystal owing to spontaneous nucleation. The difficulty of spontaneous transformation to crystal of KF in the aqueous frozen phase will certainly be due to its low heat of solution, and the absence of hydrated crystals in spite of the micelle formation.

Keywords—cephalothin sodium; frozen solution; micelle; electrical conductivity; DSC; heat of solution

緒 言

薬物水溶液が共晶温度より低い温度で凍結されたとき、水溶液と平衡する結晶が存在すれば共晶状態に移行するはずである。しかし、塩化カリウムなどは共晶温度においてすみやかに結晶化するが、セファロリジンなどは共晶温度の近辺で annealing¹⁾ すると共晶状態に移行する。また、アスコルビン酸などは、annealing を行っても速やかに共晶状態へ移行しない。セファロチン ナトリウム (KF) は自発的には共晶状態へ移行しにくい薬物である。

凍結相における相変化を取り扱った報告は多くない。DeLuca²⁾ は共晶温度と溶解熱、融点の関係を明らかにした。近年、Gatlin³⁾ はマンニット、セファゾリン ナトリウム、ナフシリン ナトリウム、およびセファロチン ナトリウム水溶液の凍結相の熱分析を行い、凍結乾燥時の凍結温度と乾燥物の物性 (結晶質、非晶質) の関係を明らかにしている。

著者らは、KF の結晶性凍結乾燥製剤の開発を目的とし、KF 水溶液の凍結状態をしらべ、KF が自発的には共晶状態に移行しにくい理由を明らかにしたので報告する。

実験の部

試料および試薬 試料は原則として局方品、また試薬はすべて市販の特級品を用いた。

電気伝導度の測定 所定濃度の試料水溶液 1 ml を試験管 (いしい 160 型) に入れ、白金電極、温度計端子を挿入、アセトン-ドライアイス ジャー中で凍結させた。ジャー中に組み込んだガラス管内へ窒素ガスを通じ、約 0.5°C/min で昇温させた。電気伝導度 (伝導度) はメトローム E518 型電気伝導度計で、温度は、タカラ SP-01-5A 型サーミスター温度計でそれぞれ測定し、日立 056 型 2 ペンレコーダーで記録した。

熱分析の測定 測定には、パーキン エルマー DSC-2 型示差走査熱量計を用いた。試料 10 μ l をアルミパンに入れシールした。対照には空のアルミパンをシールして用いた。

試料室をアセトン-ドライアイスで -50°C に冷却後、2.5°C/min で昇温させ、感度 10 mcal/s、チャートスピード 5 mm/min で測定した。温度は 2.5% 塩化ナトリウム水溶液および 2.5% 塩化カリウム水溶液を上記測定条件で熱分析して得た共晶温度を用いて補正した。なお、共晶温度は DSC の吸熱変化の始まる温度とした。

pH 測定 コーニング 125 型 pH メーターを用い、25°C の恒温水槽 (ハーケ F2 型) 中で測定した。測定は濃度の高い側から順次希釈しながら行った。

溶解度の測定 内容 5 ml の広口アンプルに、試料の過飽和溶液 2 ml を入れ種晶を加えたのを融閉した。アンプルは所定温度の恒温槽中で 5 時間振とうした。過剰の結晶をミリポア HAWP-013 フィルターを用いて速やかに濾別した。濾液中の濃度は、日立 ESP-3T 型分光光度計を用い UV 吸収法で測定した。なお、UV 吸収を有しない薬物の濃度は、濾液の一定量を凍結乾燥し、重量を測定して求めた。

結果および考察

1) KF の溶解状態

Fig. 1 に KF 水溶液の伝導度変化を示す。5% 濃度以上で -18—-22°C の間で伝導度の急激な増加が認められた。しかし、0.5—1.5% 濃度において、-17°C 以上の温度域で昇温に伴う伝導度の増加が認められなかった。これらの伝導度変化は、KF の共晶凍結時には認められなかった。0.5—1.5% 濃度で認められた伝導度変化は、非晶凍結から共晶凍結へ移行する場合の伝導度変化に類似している。

Fig. 2 に 1.0% と 9.4% 濃度について、-50°C から昇温させた時の伝導度変化と、-50°C から -5°C まで昇温させた後に -50°C まで再冷却してから昇温させた時の伝導度変化を示す。1.0% 濃度で一回目の昇温時に認められた伝導度の低下は、再昇温時に認められなかった。しかし、9.4% 濃度で認められた伝導度の急激な増加は、再度の昇温時にも認められた。

Fig. 3 に KF 水溶液の熱分析の結果を示す。17% 濃度のばあい -18°C に小さな吸熱ピークを認めた。しか

Fig. 1. Temperature Dependence of Conductivity of Cephalothin Sodium in Aqueous Frozen Phase

A, 23.1% amorphous; B, 5.0% amorphous; C, 26.0% eutectic; D, 1.5% amorphous; E, 0.9% amorphous; F, 0.5% amorphous.

Fig. 2. Temperature Dependence of Conductivity of Cephalothin Sodium in Aqueous Frozen Phase

△▲, 1.0%; ○●, 9.4%; △○, measured at first warming; ▲●, measured at second warming after recooling from -5°C to -50°C.

Fig. 3. DSC Thermogram for Aqueous Frozen Solution of Cephalothin Sodium

A, 2% amorphous; B, 17% amorphous; C, 23% eutectic.

Fig. 4. Phase Diagram for Cephalothin Sodium-Water

△, solubility; ○, freezing point.

し、2% 濃度ではこの小さい吸熱ピークは認められず、23% 濃度で種晶を加えて共晶凍結へ移行させた後に熱分析を行ったばあいにも、この小さな吸熱ピークは認められなかった。この小さな吸熱ピークの生じる温度と伝導度の急激な増加の表れる温度は一致した。

Fig. 4 に KF-水系の相図を示す。凝固温度は濃度が増加しても大きく低下しない。凝固点曲線と KF の溶解度曲線²⁾の交点から、KF-水系の共晶温度は $-2 \sim -3^{\circ}\text{C}$ である。この温度は種晶を加えて共晶状態に移行させてから伝導度を測定して得た共晶温度の値と一致した。¹⁾

Gatlin⁸⁾ は KF 水溶液の熱分析を行い、この小さな吸熱ピークを見出した。そして、KF 水溶液の水の融け始める温度が KF の濃度の増加に伴い -18°C 近辺に近づくことを述べている。しかし、Fig. 1, 4 の結果から KF の共晶温度が -18°C でないことは明らかである。 $-18 \sim -22^{\circ}\text{C}$ に認められる伝導度の急激な増加および DSC の小さな吸熱ピークは、非晶凍結時に表れることから共晶温度以下に過冷却された濃厚溶液の状態の変化を示している。稲場⁴⁾ は酸化ウランの伝導度 (σ) を測定し、絶対温度の逆数 ($1/T$) に対して $\log \sigma T$ をプロットし、Z 型ジャンプ (伝導度の急激な増加) の幅から規則-不規則転移のエントロピー変化を求めている。KF 水溶液の非晶凍結相で認められた伝導度の急激な増加および DSC の小さな吸熱ピークは、KF の濃厚溶液の吸熱を伴うガラス転移⁹⁾を示している。

Thakkar⁵⁾ は核磁気共鳴スペクトル (NMR) の測定から、ベンジルペニシリン カリウムが $0.275 \sim 0.251 \text{ M}$ 以上の濃度でミセルを形成することを見出した。Bogardus⁶⁾ は、ナフシリン ナトリウム水溶液の熱分析を行い、 -5°C に小さな吸熱ピークを見つけ、会合したナフシリン ナトリウムが濃縮されて液晶を形成し、 -5°C で凍結するのであろうと述べている。ナフシリン ナトリウムのミセル形成濃度は $2 \sim 3\%$ と報告されている。中垣⁷⁾ は電解質の薬物が会合したとき解離定数が変化することを利用し、塩酸プロマジンの pH を濃度を変えて測定し、塩酸プロマジンのミセル形成濃度を求めている。

Fig. 5 に KF 水溶液の pH-濃度曲線を示す。pH の急激な変化は KF 濃度 $2 \sim 6.3\%$ の範囲で認められる。これは KF の会合が 2% 近辺から起きることを示している。西川⁸⁾ は、NMR の測定から KF がミセルを形成することを見だしている。 1.5% 以下の KF 水溶液で昇温時に不可逆な伝導度の低下が認められ、 4.9% 以上の KF 水溶液で可逆的な伝導度の急激な増加が認められたのは、 $2 \sim 6.3\%$ の間で KF がミセルを形成し溶解状態が変化したためである。また熱分析において -18°C に認められた小さな吸熱ピークは非晶凍結相中に濃縮された KF のミセルに水和した水の凍結温度を示すものである。

界面活性剤溶液はミセル形成濃度以上で、濃度が増加しても活動度が一定で、熱力学的に安定であることが知

Fig. 5. Plots of pH versus Logarithmic Concentration of Cephalothin Sodium at 25°C

られている。⁹⁾ しかし、ミセルを形成するラウリル硫酸ナトリウム、ナフシリン ナトリウムは凍結相においてすみやかに、自発的に成核し共晶状態に移行する。また、ミセルを形成していない 1% 濃度の KF 水溶液を -50°C から -5°C まで昇温し、伝導度の低下を確認してから凍結乾燥を行った。この凍結乾燥 KF を顕微鏡観察した結果、その形状は針状結晶に似ているが、複屈折性を示さず非晶質であった。したがって、単分子溶解している KF も凍結相で自然成核し難く、KF が自発的には共晶化しにくい理由をミセル形成で説明することは出来ない。

2) 溶解熱と薬物水溶液の凍結状態

Table I に薬物の水への溶解度、Table II に溶解度の Van't Hoff plots から求めた溶解熱を示す。

溶解熱が大きいほど溶解度の温度依存性が大きい。したがって溶解熱の大きい薬物ほど凍結相で過冷却された濃縮溶液の過飽和度が大きいことを示している。

セファロリジン、セファメジン ナトリウム、塩酸チアミン、塩酸ジセチアミン、マニトール、炭酸水素ナトリウム、グリシン、ニコチン酸アミド、サリチル酸ナトリウムなどの共晶温度は、いずれのばあいも 0°C 近辺にあり、annealing により容易に共晶状態となる。¹⁾ グルコース、 β -アラニン、酢酸、酢酸ナトリウムなどの共晶温度は、セファロリジンなどに比べてかなり低い。annealing によって自発的な成核が生じ共晶状態に達する。上記の共晶凍結しやすい薬物の溶解熱は、いずれも大きい値であった。ミセルを形成するが、共晶凍結しやすいラウリル硫酸ナトリウムの溶解熱は、cmc 以下で 4.9 kcal/mol, cmc 以上で 42 kcal と大きな値であった。アスコルビン酸、酒石酸や KF は annealing しても容易に共晶状態へ移行しない。これらの溶解熱はそれぞれ、1.7 kcal/mol, 1.7 kcal/mol, およ

TABLE I. Solubilities of Various Drugs in Water

Drug	Solubility (%)			
	Temperature ($^{\circ}\text{C}$)			
	5	10	25	35
Cephalothin Na	20.2	21.8	23.4	25.1
Cefazolin Na	20.2	25.0	30.1	
Thiamine·HCl	44.0	48.1	51.7	
Dicethiamin·HCl	9.3	14.2	17.9	
Glucose	42.7	49.7	55.8	
β -Alanine	41.9	44.0	45.9	
Glycine	13.9	17.4	20.1	
Ascorbic acid	20.0	22.0	23.6	

	Temperature ($^{\circ}\text{C}$)		
	1	4	8
Cephaloridine	2.8	3.5	4.6
Nicotinamide	20.8	22.9	28.1

TABLE II. Heat of Solution

Drugs	Heat of solution (kcal/mol)			
	Authors	ICT ¹⁰⁾	SIOC ¹¹⁾	Gatlin ¹²⁾
Cephalothin Na	1.6			1.1
Cephaloridine ^{a)}	11			
Cefazolin Na ^{b)}	5.7			5.9
Thiamine·HCl	2.4			
Dicethiamin·HCl ^{c)}	6.2			
Glucose	4.0	4.6	4.7	
Mannitol		5.5	5.3	4.4
β -Alanine	2.3			
Glycine	3.4		3.4	
Nicotinamide	5.2			
Ascorbic acid	1.7			
Tartaric acid		1.6	1.7	
Na acetate ^{d)}		2.1		
Na salicylate			4.0	
SLS ^{e)}			4.9 ^{f)}	
			42 ^{g)}	
NaCl		0.09	0.1	
KCl		1.2	1.7	
NaHCO ₃		2.6		

a) 3/4 mol hydrate; b) $\times(1.5-5)$ mol hydrate; c) 1 mol hydrate; d) 3 mol hydrate; e) sodium lauryl sulfate; f) below the critical micelle concentration (cmc); g) above the cmc.

び 1.6 kcal/mol で、共晶凍結しやすい薬物に比べて小さい値であった。

アスコルビン酸、酒石酸は分子中に多くの水酸基を持ち、水に溶解するとき水和量が大いと考えられる。KF は水酸基を有しないが、ミセルを形成し水和している。しかし、アスコルビン酸、酒石酸や KF は、いずれも対応する hydrate が見い出されていない。水和した状態から hydrate が析出するのに比べて anhydrate として析出するには、多くのエネルギーを必要とすると考えられる。ナフシリンは hydrate が存在し、⁹⁾ ラウリル硫酸ナトリウムのクラフト点が hydrate の融点であると言われている。⁹⁾

塩化カリウム、塩化ナトリウムの溶解熱が小さいにもかかわらず、凍結相において共晶固化しやすい。塩化ナトリウムは 2 水和物として共晶固化することが知られているが、²⁾ 無機のイオン結晶と有機化合物を同一基準で比較出来ないことを示している。

以上の結果から、KF 水溶液の凍結相において自発的には共晶固化しにくい理由は、溶解熱が小さいこと、ミセルを形成して溶解しているにもかかわらず hydrate が見い出されていないことによると結論される。

結 論

セファロチン ナトリウム (KF) は、約 2% 濃度以上の水溶液中でミセルを形成する。

cmc 以下の濃度の KF 水溶液を凍結させれば、KF は非晶質として析出し、cmc 以上の濃度では凍結相において濃厚なミセル溶液として存在し、その水和水は -18°C で凍結する。KF は凍結相において自発的には共晶状態へ移行しにくく、その理由は溶解熱が小さいこと、ミセルを形成するにもかかわらず hydrate が存在しないことによると結論された。

引 用 文 献

- 1) 井上正義, 島 和弘, 稲津邦平, 薬誌, **104**, 966 (1984).
- 2) P. DeLuca, L. Lachman, *J. Pharm. Sci.*, **54**, 617 (1965).
- 3) L. Gatlin, P. DeLuca, *J. Parenter. Drug Assoc.*, **34**, 398 (1980).
- 4) H. Inaba, T. Matui, K. Naito, *J. Nuclear Materials*, **58**, 115 (1975).
- 5) A. L. Thakkar, W. L. Wilham, *Chem. Commun.*, **1971**, 320.
- 6) J. B. Bogadus, *J. Pharm. Sci.*, **71**, 105 (1982).
- 7) 中垣正幸, 岡田敏史, 薬誌, **98**, 1311 (1978).
- 8) 西川純子 (塩野義研究所), 竹内敬人 (東大教養学部) 未発表.
- 9) 篠田耕三, “溶液と溶解度,” 丸善, 東京 1966.
- 10) N. W. Taylor, J. N. Brönsted, “International Critical Table,” Vol. IV, McGraw-Hill Book, Inc., New York, 1928.
- 11) H. Stephen, T. Stephen, “Solubilities of Inorganic and Organic Compounds,” Pergamon Press, London, 1963, 1964.
- 12) L. Gatlin, Ph. D thesis, University of Kentucky, 1981.