

厚生科学研究費補助金

医薬安全総合研究事業

溶出試験の変動要因の解明及びその制御に関する研究

平成13年度 総括研究報告書

主任研究者 四方田千佳子

平成14年(2002年)4月

## 目 次

### I 総括研究報告書

|                          |   |
|--------------------------|---|
| 溶出試験の変動要因の解明及びその制御に関する研究 | 1 |
| 四方田千佳子                   |   |

### II 分担研究報告書

|                        |   |
|------------------------|---|
| 溶出試験の変動要因に関する研究（脱気の影響） | 6 |
| 鹿庭なほ子                  |   |

（資料1）溶出試験の変動要因に関する研究（脱気の影響）

|                          |    |
|--------------------------|----|
| 溶出試験の変動要因に関する研究（溶存酸素の測定） | 28 |
| 四方田千佳子                   |    |

（資料2）溶出試験液の脱気方法と溶存酸素量の関係

|                          |    |
|--------------------------|----|
| 溶出試験の変動要因の解明及びその制御に関する研究 | 34 |
| 鈴木英世                     |    |

|                          |    |
|--------------------------|----|
| 溶出試験の変動要因の解明及びその制御に関する研究 | 38 |
| 鳥海良寛                     |    |

|                            |    |
|----------------------------|----|
| 医薬品成分のメンブランフィルターへの吸着に関する研究 | 45 |
| 梶村計志                       |    |

|  |    |
|--|----|
| 医薬品成分のメンブランフィルターへの吸着に関する<br>測定データの統計解析 | 58 |
| 大隅 昇                                   |    |

|                   |    |
|-------------------|----|
| 溶出試験の技能試験における変動要因 | 78 |
| 四方田千佳子            |    |

（資料3）溶出試験の技能試験における変動要因（塩酸カルテオロール錠の場合）

（資料4）溶出試験の技能試験における変動要因（マレイン酸イルソグラジン錠の場合）

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合事業）

総括研究報告書

溶出試験の変動要因の解明及びその制御に関する研究

主任研究者 四方田千佳子 国立医薬品食品衛生研究所

食品添加物部第一室長

（研究要旨）

固形製剤の溶出試験において、試験結果が実施機関により異なる場合があり、それらの要因は必ずしも明らかではない。機関による溶出試験の変動要因を明らかにするため、いくつかの因子を取り上げて数機関で詳細に検討すると共に、地方衛生研究所を対象とする溶出試験の技能試験を変動要因が明らかとなるように設計し、結果の解析を試みた。

まず、溶出試験の変動要因として試験液の脱気方法を取り上げ、分担研究機関での共同実験を行った。脱気方法として無脱気、USP法、FDA法、NIHS法およびその他の方法を取り上げ、試験製剤としてUSPの溶出試験器用カリブレータであるプレドニゾン錠、サリチル酸錠および市販セタプリル錠を用い、溶出試験への脱気の影響につき詳細に検討した。統計解析により、いずれの製剤においても脱気の影響が認められた。さらに、各脱気状態で溶存酸素量を測定したところ、溶存酸素量と溶出率の間には相関が認められ、溶存酸素量が少ないほど溶出率が低下する傾向が見られた。各種の脱気法を複数の機関で試験することにより、脱気法が溶出試験の明らかな一変動要因であることが示された。

一方、溶出試験ではフィルターろ過により試験液の不溶物を除去することが規定されている。溶出試験が採用されている局方、局外規の医薬品50種類について、メンブランフィルター7種における医薬品吸着の有無を検討した。その結果、統計解析からもほぼすべての医薬品がいずれかのフィルターに吸着することが明らかとなり、すべての膜で疎水性が高い医薬品ほど吸着しやすい傾向が認められた。相当数の医薬品が膜吸着を示しことより溶出試験の変動要因となる可能性が示唆された。

さらに、地方衛生研究所を対象とする溶出試験の技能試験結果の解析から、報告値の変動は、錠剤の崩壊や溶出というベッセル内の要因のみではなく、試料溶液採取後の分析部分に起因するばらつきが大きく影響していることが示された。溶出試験において従来はあまり着目されていなかった溶出試験器以後の定量操作部分に試験室間の変動要因が存在する事が明らかとなった。

## A. 研究目的

現在、監視指導行政の一環として、オレンジブックで溶出試験方法が規格化された医療用後発医薬品の品質確保を図るため、各都道府県衛生研究所等において種々の市販内服固形製剤の溶出試験を実施されてきている。

しかし一方では、薬事法に基づく指定検査機関の分析技術の保証・管理・評価に関しての体制は充分とはいえず、指定検査機関のデータの品質保証は、規制緩和を裏打ちする監視指導に関わる重要なポイントである。薬事法に基づく指定検査機関における、溶出試験の信頼性確保のためには、機関による測定結果の変動要因を明らかにし、要因制御のための方策を模索する必要がある。さらに、それらを基にして、各試験検査機関に対する溶出試験の技能試験スキームを開発し運営することが必要である。

すでに、試験液の脱気の程度は溶出試験に影響を及ぼすことが知られているが、試験液の脱気には様々な方法が使用されている。しかし、必ずしもその特性は明らかではない。そこで、本研究では溶出速度が脱気の程度に影響されやすい3種の製剤を試料として、医薬品の品質再評価で使用されている脱気方法等につき、溶存酸素濃度測定を指標として、その脱気効率を比較すると共に、溶出結果への影響を検討した。

また、溶出試験では採取した溶出液をろ過後、希釈等の操作を行って試料溶液を調製する。大部分の医薬品では、ろ過にメンブランフィルター(MF)を使用することが規定されるが、使用するMFには、医

薬品が吸着を起こすことが知られている。しかし、医薬品成分のMFへの吸着について系統だって調査した例は見あたらない。そこで、溶出試験で使用される可能性のある一連のMFへの、局方収載医薬品(21種類)及び日本薬局方外医薬品規格(局外規)収載医薬品(29種類)の吸着の有無及びその制御方法について検討した。さらに、これらの結果について統計解析を試みた。

地方衛生研究所溶出試験を対象とする溶出試験の技能試験の設計では、試験製剤として水溶性の高い医薬品の錠剤と、疎水性の強い医薬品の錠剤を選択し、錠剤と共に主成分の水溶液あるいは、標準溶液を配布し、変動要因の特定を試みた。

## B. 研究方法

溶出試験機は各機関で使用しているもので、マニュアルで試料溶液を採取するものから、全自動溶出試験機まで、数種のメーカーのものが使用された。

通常の方法に従った。その他、別紙資料に示した方法で試験を実施した。

溶存酸素濃度は、酸素電極をPCMCIAカードでパソコンに接続するシステムを使用し、経時的に溶出試験条件下での溶存酸素濃度変化を測定した。

MFへの医薬吸着量は、溶出試験における標準溶液を調整し、MF通過後の溶液のUV測定により吸着量を測定した。

## C. 研究結果

溶出試験に及ぼす、脱気方法の検討では、脱気方法として無脱気、USP法、FDA法、

NIHS 法およびその他の方法を取り上げ、4つの分担研究機関で USP の溶出試験器用カリブレータであるプレドニゾン錠、サリチル酸錠および市販製剤のアラセプリル錠を用いて、溶出試験を実施した。得られた溶出試験結果を3因子又は4因子の完全枝分かれ実験計画に従って分散分析を行い、さらに、有意差が検出された変動要因については、Turkey の多重比較を行ったところ、いずれの製剤においても脱気の影響が認められ、無脱気と FDA 方式において有意に溶出率が高くなった。USP 法と NIHS 法ではほぼ同等の低めの溶出結果が得られた。

さらに、脱気状態の客観的な判別方法として溶存酸素電極を取り上げ、4機関で、それぞれの脱気方法で脱気した試験液を溶出試験器にセットし、経時的に溶存酸素量を測定した。溶存酸素量が最も低かったのは、He 環流方式と煮沸法であり、次いで USP 法、加温吸引方式(5分)であった。FDA 方式では、ほとんど無脱気と差が認められず、NIHS 法は無脱気と USP 法の間位置した。各錠剤の溶出率と酸素飽和度の関係を見ると、サリチル酸錠では、脱気による溶出率の変化は比較的小さく、プレドニゾン錠では、無脱気では特異的に溶出率が大きく、その他の脱気法間ではほぼ同程度の溶出率を示した。アラセプリル錠では、もともと脱気方法による差が大きく、酸素飽和度 90%を境に、90%以下となるとほぼ一定の溶出率を与え、脱気が不十分で 90%以上となると急激に溶出率が増加した。90%以下の酸素飽和度で溶出率がほぼ一定となる傾向は、他の二つの錠剤でも同様であった。

少なくとも今回検討した錠剤においては、溶存酸素量を指標とすると、脱気による酸素飽和度が 90%以下となると脱気方法による影響はほぼなくなることが示唆された。酸素飽和度 90%以下を達成できるのは、NIHS 法、USP 法、He 環流法、加温吸引法、煮沸等であった。

以上の共同実験により、脱気法による溶出率の差や、溶存酸素量と溶出率との関連が認められ、脱気方法が溶出試験の明らかな一変動要因であることが明らかとなった。

メンブランフィルターによる医薬品吸着では、溶出試験で採取した溶出液を適当なフィルターによりろ過して不溶物を除去することが規定されている。しかし、フィルターの種類に指定はなく、各地方衛生研究所の溶出試験の技能試験で使用されたものに限っても、ポリエーテルスルホン、セルロースアセテートなど 10 種類に及ぶ。溶出試験の実施が規定されている局方、局外規の医薬品 50 種類について、メンブランフィルター 7 種における医薬品吸着の有無を検討した結果、それぞれの膜に有意に吸着する医薬品があり、50%以上の医薬品がいずれかのフィルターに吸着することが明らかとなった。

地方衛生研究所等の薬事法に基づく試験検査機関を対象とする溶出試験の技能試験において、技能試験スキームを溶出試験の変動要因が類推されるように設定し、技能試験結果を解析した。平成 12 年度技能試験結果では、比較的水溶性の高い塩酸カルテオロール錠を取り上げ、通常の溶出試験の他にあらかじめ配付した塩酸カルテオロール水溶液による溶出試験操作を

設定したところ、水溶液の溶出結果と錠剤による溶出試験結果に高い相関が見られた。これは、溶出試験のばらつきが、ベッセル以後の測定のばらつきに依存することを意味し、錠剤の崩壊や溶出というベッセル内の要因ではなく、分析操作部分のばらつきが大きな要因となりうることが明らかとなった。この要因には、ベッセルから試料溶液の採取、フィルターろ過、吸光度測定までの操作が含まれている。異常に小さな溶出率を報告した一機関では、配付溶液による溶出操作でも小さな値を報告しており、試験液のろ過に使用したフィルターへの吸着が疑われた。これは前述のフィルター吸着の検討で実際に確認された。また、吸光度の測定値の比較により、分光光度計の保守が必要な事例も数例認められた。

平成 13 年度の溶出試験の技能試験では、比較的疎水性の高い医薬品からマレイン酸イルソグラジン錠を取り上げ、マレイン酸イルソグラジン水溶液が不安定なために標準溶液としてカフェイン水溶液を配付した。溶出率の報告値は最大 20%の幅が見られ、分光光度計のバリデーション不良に起因する吸光度の異常値は 2 機関であり、使用機器や、使用フィルターとの関連も特に認められず、溶出率の変動原因は今後さらに検討を要すると思われた。

以上の溶出試験の技能試験結果より、溶出試験において従来はあまり着目されていなかった溶出試験器以後の測定操作部分に大きな変動要因が存在する場合があることが明らかとなった。同一試験室内における溶出試験器の変動要因としてはもっぱらベッセル内に原因を求める場合が

多いが、試験室間の変動要因としてはベッセル以後の測定系にも十分な注意を払う必要があると結論された。

#### D. 考察

溶出試験に及ぼす脱気方法の影響では、FDA 方式は脱気の方法としては簡便であるが、アラセプリル錠では検討した 2 試験室において、プレドニゾン錠においても 1 試験室で無脱気と同程度の溶出率が得られたため、NIHS 方式または USP 方式に比較して脱気の程度が不十分と考えられた。2つの試験室で検討された加温吸引方式は、吸引時間が 1 分ではアラセプリル錠及びサリチル酸錠で、若干 USP 方式よりも高めの結果を与えたが、5分では USP 法と同程度であり、加温吸引方式は、溶出試験の脱気方法として適切であると考えられた。He 環流方式は、NIHS 方式及び USP 方式とほぼ同程度の溶出試験結果を与え、溶出試験の脱気方法として、満足できると考えられた。NIHS 方式と USP 方式との間で有意差が検出されたのは、アラセプリル錠における 1 試験室のみであり、ほぼ同程度の脱気効率を有すると見なせた。また、5分間煮沸法は、3つのマーカで共通して USP 方式に匹敵する低い溶出速度を与え、溶出試験の脱気の方法として充分と考えられた。

溶出試験液の脱気方法と溶存酸素量の関係より、溶存酸素量を指標とすると、溶出試験への脱気の程度の影響は酸素飽和度 90%を境として変化し、酸素飽和度が 90%程度以下では、それ以上溶存酸素量が減っても溶出率には影響を及ぼさないと思われた。これは、溶存気体がある程度

以上存在すると、錠剤表面に微細な気泡を生じるのではないかという推測と考えあわせると、溶存酸素量 90%が錠剤表面への気泡生成の臨海点に相当するのではないかと思われた。

医薬品の MF への吸着では、医薬品特性との関連を調べるため、医薬品の水/オクタノール分配係数 (logP) をオンラインデータベースで検索し、logP 値の得られた医薬品について吸着との相関を検討したところ、医薬品吸着例の多かった、ポリビニリデンジフロライド (PVDF) 膜、再生セルロース (RC) 膜では、医薬品の logP が大きく疎水性が高くなるに連れて、膜への吸着が多くなる傾向が認められた。特に PVDF 膜において相関が高く、その他の膜では、全体として分配係数に若干依存する傾向が見られた。また、同じタイプの MF として販売されているものでも吸着の程度が顕著に異なることを明らかにした。この原因の詳細は不明であるが、膜の細孔形など立体構造の微妙な相違が原因なのかも知れない。

溶出試験の技能試験結果より、試料溶液を採取した後の定量操作に至る部分に由来するものも一因であることが示唆された。従来、溶出試験器の変動要因は、一つの試験所での測定精度に基づいて検討されていたために専ら溶出試験器本体のみに着目され、試料溶液採取後の定量操作に大きな変動が存在することは予想されていなかった。

#### E. 結論

本研究により、ベッセル内の変動要因としては試験液の脱気の影響が無視できな

いこと、MF の選定に当たっては、医薬品吸着の可能性を考えて慎重に対処する必要があること、溶出試験においても医薬品の定量操作に対するバリデーションが極めて重要であること等が認識され、今後の分析操作部分の精度管理用技能試験スキームの改良により、今後の医薬品監視行政に携わる試験検査機関の信頼性確保の道に資するものと考えられる。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) 渡会三千代, 鈴木英世, 溶出試験器のカリブレーションパドル回転軸の中心からのずれが市販製剤の溶出率に与える影響一, 医薬品研究, 2002, Vol.33, No.1 : 8-16

2) 梶村計志, 田頭洋子, 四方田千佳子, 岩上正蔵, 医薬品成分のメンブランフィルターへの吸着に関する研究, 医薬品研究, 2002, Vol.6, No.3 : 413-422

##### 2. 学会発表

梶村 計志, 田頭洋子, 四方田千佳子, 岩上正蔵, 医薬品成分のメンブランフィルターへの吸着に関する研究, 第 39 回全国衛生化学技術協議会年会 (2001, 山形) (発表予定) .

#### H. 知的所有権の取得情報

なし

分担研究報告書

溶出試験の変動要因に関する研究

分担研究者 鹿庭 なほ子 国立医薬品食品衛生研究所薬品部第三室長

**研究要旨** 溶出試験は変動要因が極めて多く、装置間、試験室内、試験室間で再現性のよいデータを得ることが困難な試験法である。試験液に溶存する気体、すなわち、試験液の脱気の程度は溶出試験に大きな影響を及ぼすことが知られている。現在、試験液の脱気には様々な方法が使用されているが、必ずしもその妥当性が示されたものばかりではない。本研究では、溶出速度が脱気の程度に影響されやすい3種の製剤をマーカーとして用い、医薬品の品質再評価で使用されている脱気方法をはじめとする繁用される幾つかの方法について、その妥当性を検討した。その結果、医薬品の品質再評価で使用されている脱気方法、He 還流方式、加温吸引方式及び煮沸方式は、脱気の程度が高いと考えられている USP 方式と同等の結果を与え、溶出挙動の側面から判断する限りにおいては、妥当な方法であると結論付けられた。

A. 研究目的

脱気の程度が製剤の溶出速度に影響を及ぼすことはよく知られている。試験室は、それぞれの都合に合わせて適切と思われる脱気の方法を採用しているが、必ずしもその妥当性が示されたものばかりではない。本研究では、溶出速度が脱気の程度に影響されやすい3種の製剤をマーカーとして用い、医薬品の品質再評価で使用されている脱気方法をはじめとする幾つかの方法について、USP が推奨する加温・攪拌下吸引濾過を組み合わせる方法（USP 方式）を標準的方法として、その妥当性を検討した。検討に取り上げた脱気方法は、再評価で用いられている 45℃で 2 時間加温する方法（NIHS 方式）、FDA が推奨する室温で吸引する方法（FDA 方式）、大日本精機の溶出試験器 RT-3 が採用している方法（加温吸引方式）、Zymark の自動溶出試験器が採用している方法（He 還流方式）、脱気の方法としてしばしば用いられる煮沸法、超音波法及び 37℃に長時間保つ方法（37℃平衡

法）である。

B. 研究方法

分担研究員が所属する4つの試験室による共同実験により検討を行った。マーカー製剤として、USP の溶出試験用カリブレータであるプレドニゾン錠、サリチル酸錠及び市販アラセプリル錠を用いた。溶出試験はそれぞれの製剤に規定されている試験法に従って行った。3 因子又は 4 因子の完全枝分かれ実験計画に従って、分散分析を行った。有意差が検出された変動要因については、Tukey の多重比較を行った。

（倫理面への配慮）

本研究ではヒトを対象とした in vivo 実験を行わなかったため、特に倫理面への配慮の必要はなかった。

C. 研究結果

(1) USPプレドニゾン錠の結果

試験室間共同実験のデータを分散分析した結果、USPプレドニゾン錠の平均溶出



率には、条件間及び試験室間において有意差が検出された。Tukeyの多重比較によって、条件間で差が見られたのは、無脱気とNIHS方式、及び、無脱気とUSP方式であり、NIHS方式とUSP方式との間には、有意差は認められなかった。

#### (2) USPサリチル酸錠の結果

試験室間共同実験のデータを分散分析した結果、USPサリチル酸錠の平均溶出率には、条件間及び試験室間において有意差が検出された。Tukeyの多重比較によって、どの脱気条件間においても有意差が認められたが、その差は全体的には2%以内と小さく、溶出試験上問題となる差ではなかった。

#### (3) アラセプリル錠の結果

試験室間共同実験のデータを分散分析した結果、アラセプリル錠の平均溶出率には、条件間及び試験室間において有意差が検出された。Tukeyの多重比較によって、どの脱気条件間においても有意差が認められたが、USP方式とNIHS方式による結果の差は小さく、溶出試験上問題となる差ではなかった。

#### D. 考察

NIHS方式とUSP方式との間で有意差が検出されたのは、アラセプリル錠をマーカーとしたときの1試験室のみであったが、この差は2%以下であり、溶出試験上特に問題となる差ではない。このことより、NIHS方式の脱気の程度は十分と考えられ、溶出試験の脱気の方法として妥当と考えられた。

FDA方式は脱気の方法としては簡便であるが、アラセプリル錠では検討した2つの試験室とも、また、プレドニゾン錠においても1試験室では無脱気と同程度の溶出率の上昇が観測されたので、NIHS方式またはUSP方式に比較して脱気の程度が不十分と考えられた。

2つの試験室で検討された加温吸引方式は、アラセプリル錠及びサリチル酸錠で、1試験室で若干USP方式よりも高めの結果を与えたが、その差はわずかであった。加温吸引方式は、溶出試験の脱気の方法と

して、満足できると考えられた。

He環流方式は、NIHS方式及びUSP方式とほぼ同程度の溶出試験結果を与え、溶出試験の脱気方法として、満足できると考えられた。

5分間煮沸する方法は、3つのマーカで共通してUSP方式に匹敵する低い溶出速度を与え、溶出試験の脱気の方法として妥当と考えられた。超音波法及び37℃平衡法は、検討した試験室における試験日間、試験内ではばらつきが大きかったために、明確な結論が得られなかった。

#### E. 結論

本研究より、試験液を脱気する方法として、USP方式の外に、NIHS方式、He環流方式、加温吸引方式、煮沸方式が妥当であることが明らかとなった。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

なし

#### H. 知的所有権の取得情報

なし

## 資料 1

平成 13 年度厚生科学研究費補助金医薬安全総合研究事業

「溶出試験の変動要因の解明及びその制御に関する研究」

—溶出試験の変動要因に関する研究（脱気の影響）—

分担研究員

鹿庭 なほ子

国立医薬品食品衛生研究所薬品部第三室長

## 序

投与された医薬品が生体に利用される程度を表すバイオアベイラビリティは、製剤の最も重要な性能のひとつである。先発医薬品と後発医薬品の間でバイオアベイラビリティが等しいことを意味する生物学的同等性は、治療学的同等性を保証する上で、極めて重要な要因と言える。溶出試験は、日本薬局方において、製剤間の著しい生物学的非同等を防ぐための *in vitro* 試験として位置づけられている。しかし、溶出試験は変動要因が極めて多い試験法であり、装置間、試験室内、試験室間で再現性のよいデータを得ることが困難である。試験液に溶存する気体、すなわち、試験液の脱気の程度は製剤の溶出速度に影響を与える変動要因のひとつとして知られている。現在、試験液の脱気には様々な方法があり、試験室あるいは試験装置ごとに特異な方法が採用されているため、このことが装置間、試験室間のばらつきの原因のひとつになるのではないかと考えられている。そこで、本研究では、溶出速度が脱気の程度に影響されやすい3種の製剤をマーカーとして用い、医薬品の品質再評価で使用されている脱気方法をはじめとする幾つかの方法について、その妥当性を検討した。

## 実験方法

- 【試料】 USP 崩壊型カリブレータ・プレドニゾン錠、ロット M  
(以後 USP プレドニゾン錠と略す)  
USP 非崩壊型カリブレータ・サリチル酸錠、ロット O  
(以後 USP サリチル酸錠と略す)  
市販アラセプリル錠 50 mg (セタプリル錠、大日本製薬)  
(以後アラセプリル錠と略す)

【参加試験室】 参加試験室と用いた溶出試験装置を、表 1 に示した。

表 1 共同実験参加試験室と溶出試験装置

| 試験室名                | 略称     | 溶出試験機種          |
|---------------------|--------|-----------------|
| 国立医薬品食品衛生研究所薬品部     | Lab. A | Vankel 製 VK7000 |
| 国立医薬品食品衛生研究所大阪支所薬品部 | Lab. B | 大日本精機製 RT-3     |
| 富山県薬事研究所            | Lab. C | 大日本精機製 RT-3     |
| 秋田県薬剤師会試験検査センター     | Lab. D | 富山産業製 NTR-3000  |

【溶出試験】 USP プレドニゾン錠、USP サリチル酸錠及びアラセプリル錠の溶出試験は、Appendix A, B 及び C に示したプロトコールに従って実施した。各試験室は、各脱気方法について、それぞれ 2～3 回の繰り返し実験を日を変えて行った。

【試験液の脱気方法】次の脱気方法を検討した。各参加試験室は、必ず、無脱気、NIHS方式、USP方式は検討することとした。

- 無脱気：試験液を調製後直ちに試験に用いる。
- NIHS方式：試験液を攪拌しながら45℃に2時間保持する。
- USP方式：試験液を攪拌しながら41℃に加温、直ちに0.45 $\mu$ mのフィルターを通して吸引(140mm-150mmHg)ろ過する。ろ過終了後試験液を激しく攪拌しながらさらに5分間吸引する。
- FDA方式：140-150mmHgで20分間吸引する。(加温は無し)
- 加温吸引方式：41℃に加温した試験液を1分間または5分間吸引する(600mmHg)。
- He環流方式：Heを2kg/cm<sup>2</sup>の圧力で、専用のバブリング装置を用いて通気する。
- 37℃平衡方式：試験液を37℃で24時間平衡に保つ。
- 煮沸方式：試験液を5分間煮沸する。
- 超音波方式：試験液に超音波を2時間照射する。

#### 【溶存酸素の測定】

使用機器：ORION センサーリンク PCM800

溶出試験を行ったときと同量の容量の水を脱気する。各方法で脱気した試験液をベッセルに気泡が入らないように静かに注ぐ。試験液を注いだベッセルに予めキャリブレーションを済ませたセンサーリンク PCM800を取り付ける。試験開始温度(37 $\pm$ 0.5℃)になったら、試験を開始する。30秒毎にデータ収集して、1時間溶存酸素の測定を行う。データを\*.csv形式で保存する。各脱気法につき同様の測定を2回ずつ行う。(溶存酸素のデータについては、主任研究者が解析・報告するので、本報告では省略する。)

【統計解析】完全枝分かれ実験法に従って分散分析を行った。分散分析で有意差が検出された時には、あらゆる組み合わせを対象とした多重比較(Tukeyの多重比較)を行い、有意に差のある条件、試験室の特定を行った。

## 結果

### 1. USPプレドニゾン錠

#### 1.1 試験室別結果

図1に、各脱気方法によって調製した試験液を使用したときの、Lab. AのUSPプレドニゾン錠の溶出率の平均値と標準偏差を示した。Lab. Aにおいては、NIHS方式、USP方式、He環流方式では、USPプレドニゾン錠の平均溶出率は33~34%と低く、試験した錠剤の内、1例を除いて全てがUSPの規格値(23~42%)に適合した。一方、FDA方式及び無脱気では、USPプレドニゾン錠の平均溶出率の値は40%以上となり、他の脱気方法に比べて高い値を示した。また、試験した36錠の内、21錠がUSPの規格値を外れた。溶出率の標準偏差については、USP方式が平均して高い値を示した。

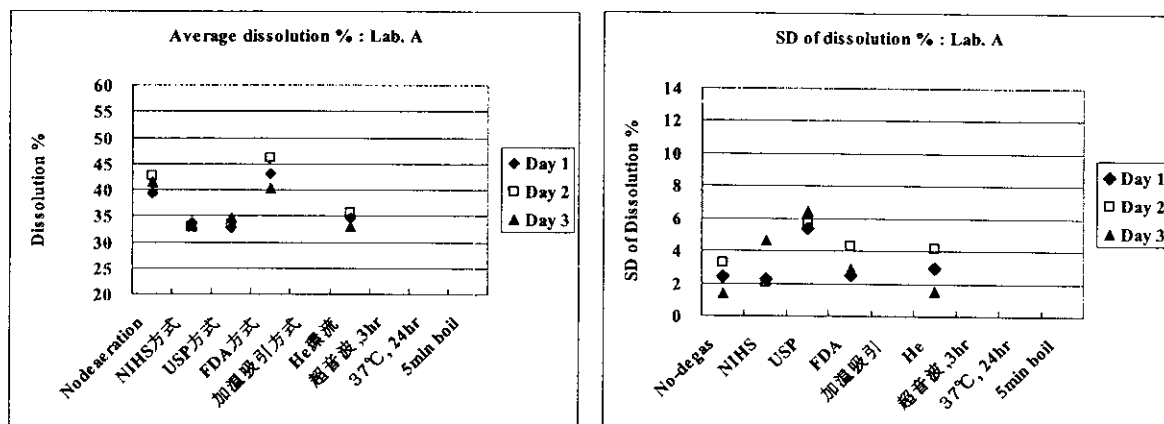


図1 USP プレドニゾン錠の平均溶出率と標準偏差に及ぼす脱気方法の影響 (Lab. A)

表2 Lab. AにおけるUSPプレドニゾン錠の溶出率に関する分散分析表

| 変動要因  | 平方和     | 自由度 | 平均平方   | 分散比   | F <sub>0.05</sub> | F <sub>0.01</sub> |
|-------|---------|-----|--------|-------|-------------------|-------------------|
| 条件    | 1577.86 | 4   | 394.46 | 48.60 | 2.49              | 3.58              |
| 試験日   | 173.72  | 10  | 17.37  | 2.14  | 1.96              | 2.57              |
| 残差    | 608.72  | 75  | 8.12   |       |                   |                   |
| Total |         | 89  |        |       |                   |                   |

表2に3因子完全枝分かれ実験計画(変動要因は上位より脱気方法、試験日、残差)による分散分析表を示した。危険率1%で条件間に溶出率の有意差が検出された。Tukeyの多重比較の結果、FDA方式及び無脱気の結果は、他の方式の脱気方法による結果に比較して有意に高かった。

図2に、各脱気方法によって調製した試験液を使用したときの、Lab. BのUSPプレドニゾン錠の溶出率の平均値と標準偏差を示し、表3に3因子完全枝分かれ実験計画による分散分析表を示した。Lab. Bにおいては、プレドニゾン錠の平均溶出率は、無脱気による結果が他の4つの脱気方法(NIHS方式、USP方式、FDA方式及び加温吸引方式)による結果に比較して約5%高かった。分散分析の結果、危険率1%で条件間に溶出率の有意差が検出され、Tukeyの多重比較の結果においても、無脱気の結果が他の方式の脱気方法による結果に比較して有意に高いと判定された。無脱気においては、試験した36錠の内、4錠がUSPの規格値を外れた。なお、標準偏差については一定の傾向が認められなかった。

表3 Lab. BにおけるUSPプレドニゾン錠の溶出率に関する分散分析表

| 変動要因  | 平方和    | 自由度 | 平均平方  | 分散比  | F <sub>0.05</sub> | F <sub>0.01</sub> |
|-------|--------|-----|-------|------|-------------------|-------------------|
| 条件    | 387.15 | 4   | 96.79 | 8.73 | 2.54              | 3.68              |
| 試験日   | 38.46  | 6   | 6.41  | 0.58 | 2.27              | 3.15              |
| 残差    | 609.48 | 55  | 11.08 |      |                   |                   |
| Total |        | 65  |       |      |                   |                   |

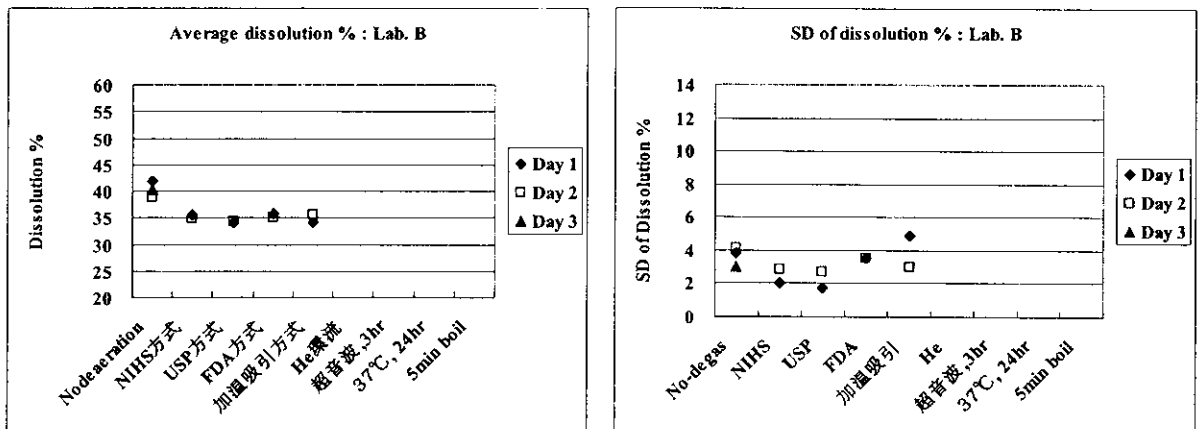


図2 USP プレドニゾン錠の平均溶出率と標準偏差に及ぼす脱気方法の影響 (Lab. B)

図3に、各脱気方法によって調製した試験液を使用したときの、Lab. CのUSPプレドニゾン錠の溶出率の平均値と標準偏差を示し、表4に3因子完全枝分かれ実験計画による分散分析表を示した。Lab. Cでは、USPプレドニゾン錠の平均溶出率はUSP方式で最も低く、無脱気で最も高く、NIHS方式と加温吸引方式では中間の値を示した。分散分析の結果、危険率1%で条件間に溶出率の有意差が検出され、Tukeyの多重比較の結果においては、無脱気とUSP方式との間にのみ有意差が検出された。Lab. Cでは全体的に溶出率が低い傾向にあったため、無脱気の試験においても規格値を外れた製剤はなかった。なお、Lab. Cにおいても標準偏差については一定の傾向が認められなかった。

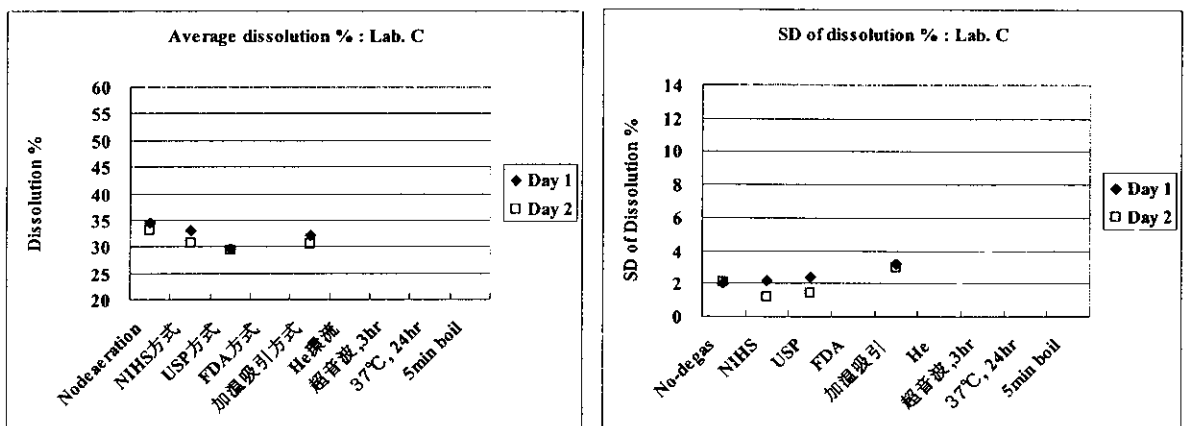


図3 USP プレドニゾン錠の平均溶出率と標準偏差に及ぼす脱気方法の影響 (Lab. C)

Lab. Dでは、3連式の溶出試験器2台を用いて試験を行った。2台の試験器の間ではどの脱気方法による試験においても、溶出試験器NTR-5S3を用いた試験結果の方が、溶出試験器NTR-3000の結果よりも15~20%も平均溶出率が高かった。NTR-5S3による結果は、39錠中35錠がUSPの規格値を外れていたため、この溶出試験装置はqualificationがされ

表 4 Lab. C における USP プレドニゾン錠の溶出率に関する分散分析表

| 変動要因  | 平方和    | 自由度 | 平均平方  | 分散比  | F <sub>0.05</sub> | F <sub>0.01</sub> |
|-------|--------|-----|-------|------|-------------------|-------------------|
| 条件    | 110.14 | 3   | 36.71 | 6.97 | 2.84              | 4.31              |
| 試験日   | 31.37  | 4   | 7.84  | 1.49 | 2.61              | 3.83              |
| 残差    | 210.83 | 40  | 5.27  |      |                   |                   |
| Total |        | 47  |       |      |                   |                   |

ていなかったと判断し、今回の研究においては、集計の対象とはしないこととした。したがって、Lab. D では、各試験 3 ベッセルの繰り返し試験を行ったことになる。

図 4 に Lab. D における各脱気方法によって調製した試験液を使用したときの USP プレドニゾン錠の溶出率の平均値と標準偏差を示し、表 5 に 3 因子完全枝分かれ実験計画による分散分析表を示した。Lab. D においては、試験日間のばらつきが大きい傾向が認められた。USP プレドニゾン錠の平均溶出率は無脱気による結果が高く、その他の方式 (NIHS 方式、USP 方式、37°C 平衡方式、超音波方式、煮沸方式) では低かった。分散分析の結果、危険率 1% で条件間に溶出率の有意差が検出され、Tukey の多重比較の結果、無脱気とその他の脱気方式との間に有意差が検出された。

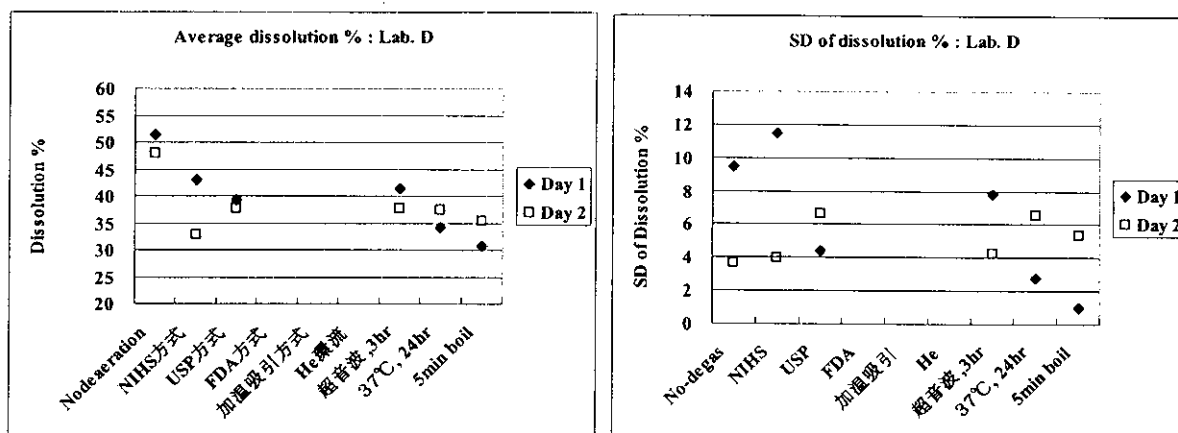


図 4 USP プレドニゾン錠の平均溶出率と標準偏差に及ぼす脱気方法の影響 (Lab. D)

表 5 Lab. D における USP プレドニゾン錠の溶出率に関する分散分析表

| 変動要因  | 平方和    | 自由度 | 平均平方   | 分散比  | F <sub>0.05</sub> | F <sub>0.01</sub> |
|-------|--------|-----|--------|------|-------------------|-------------------|
| 条件    | 971.72 | 5   | 194.34 | 4.93 | 2.62              | 3.90              |
| 試験日   | 242.51 | 6   | 40.42  | 1.02 | 2.51              | 3.67              |
| 残差    | 946.95 | 24  | 39.46  |      |                   |                   |
| Total |        | 35  |        |      |                   |                   |

## 1.2 全試験室の集計結果

無脱気、NIHS 方式及び USP 方式については、参加したどの試験室も検討を行ったので、これらの試験液調製方法について、4 因子完全枝分かれ実験計画（変動要因は上位より脱気方法、試験室、試験日、残差）に従って分散分析を行った。なお、Lab. D では、NTR-3000 を用いて USP 方式その他の方式で脱気を行った場合でも、1/4 程度の確率で溶出率が規格値を外れるケースがあり、原因を特定することはできないが装置又は操作の qualification が十分でないことが考えられた。そのために、ここでの解析の対象からは除外した。

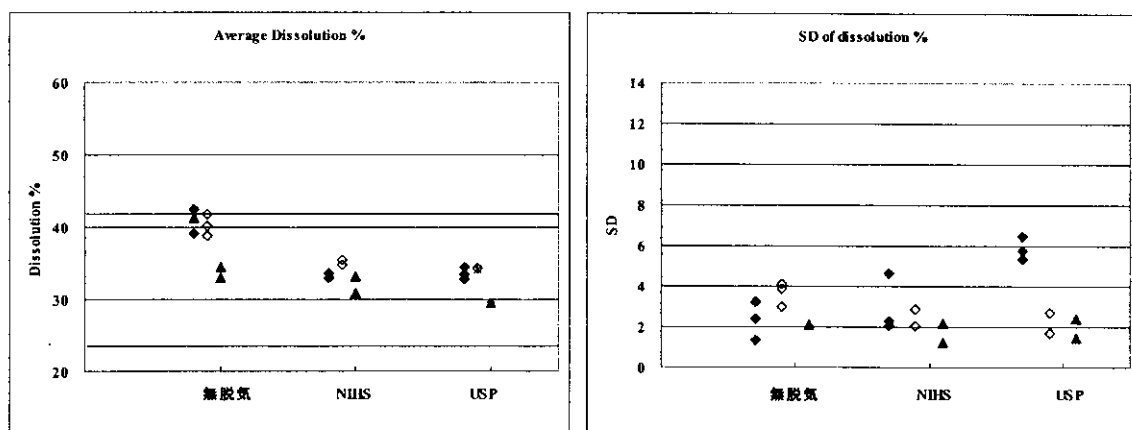


図5 USP プレドニゾン錠の平均溶出率と標準偏差に及ぼす脱気方法の影響  
(◆ Lab. A, ◇ Lab. B, ▲ Lab. C)

表6 試験室共同実験における USP プレドニゾン錠の溶出率に関する分散分析表

| 変動要因  | 平方和     | 自由度 | 平均平方   | 分散比     | F <sub>0.05</sub> |
|-------|---------|-----|--------|---------|-------------------|
| 条件    | 1088.10 | 2   | 544.05 | 7400.51 | 3.08              |
| 試験室   | 661.36  | 6   | 110.23 | 1499.38 | 2.18              |
| 試験日   | 101.47  | 13  | 7.81   | 106.18  | 1.81              |
| 残差    | 737.93  | 110 | 6.71   |         |                   |
| Total |         | 131 |        |         |                   |

図5に、USP プレドニゾン錠について、Lab. A, B 及び C の結果をプロットし、分散分析の結果を表6に示した。条件間及び試験室間において有意差が検出された。Tukey の多重比較によって、条件間で差が見られたのは、無脱気と NIHS 方式、及び、無脱気と USP 方式であり、NIHS 方式と USP 方式の間には有意差は認められなかった。また、試験室間で差が認められたのは、Lab. C と他の試験室との間であった。Lab. C と B では同一の型式の溶出試験器を用いていたので、Lab. C と他の試験室との差は、試験装置の差というよりは、試験室に起因する操作又は装置の調整法の差と考えられた。

## 2. USP サリチル酸錠

### 2.1 試験室別結果



図 6 に、各脱気方法によって調製した試験液を使用したときの、Lab. A の USP サリチル酸錠の溶出率の平均値と標準偏差を示した。Lab. A においては、USP サリチル酸錠では、平均溶出率に関しては脱気の方法による際立った特徴は認められなかったが、標準偏差に関しては、無脱気と FDA 方式による脱気において、ばらつきが大きくなる傾向が認められた。その結果、無脱気と FDA 方式による脱気においては、USP の規格値 (17~26%) を外れる錠剤が散見された。表 7 に 3 因子完全枝分かれ実験計画による分散分析表を示した。危険率 5% で条件間に溶出率の有意差が検出された。Tukey の多重比較の結果、FDA 方式の結果は、USP 方式による結果に比較して有意に高かった。

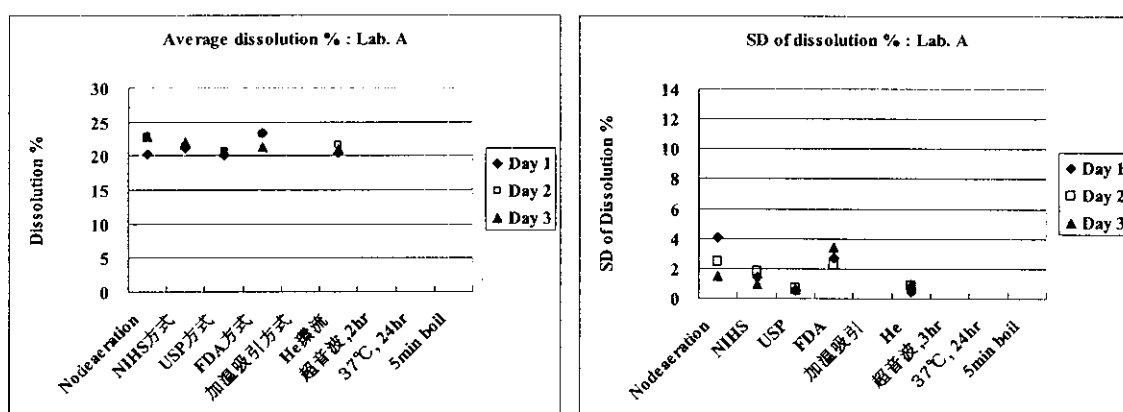


図 6 USP サリチル酸錠の平均溶出率と標準偏差に及ぼす脱気方法の影響 (Lab. A)

表 7 Lab. A における USP サリチル酸錠の溶出率に関する分散分析表

| 変動要因  | 平方和    | 自由度 | 平均平方  | 分散比  | F <sub>0.05</sub> | F <sub>0.01</sub> |
|-------|--------|-----|-------|------|-------------------|-------------------|
| 条件    | 50.20  | 4   | 12.55 | 3.21 | 2.49              | 3.58              |
| 試験日   | 53.88  | 10  | 5.39  | 1.38 | 1.96              | 2.57              |
| 残差    | 293.20 | 75  | 3.91  |      |                   |                   |
| Total |        | 89  |       |      |                   |                   |

図 7 に、各脱気方法によって調製した試験液を使用したときの、Lab. B の USP サリチル酸錠の溶出率の平均値と標準偏差を示し、表 8 に 3 因子完全枝分かれ実験計画による分散分析表を示した。Lab. B においては、USP サリチル酸錠の平均溶出率は、USP 方式及び NIHS 方式で最も低く、無脱気で最も高く、FDA 方式と加温吸引方式では中間の値を示した。USP の規格値に不適合となった製剤はなかった。分散分析の結果、危険率 1% で条件間に溶出率の有意差が検出され、Tukey の多重比較の結果においても、無脱気の結果が USP 方式及び NIHS 方式による結果に比較して有意に高いと判定された。なお、標準偏差については一定の傾向が認められず、どの脱気方法によってもばらつきは小さかった。

図 8 に、各脱気方法によって調製した試験液を使用したときの、Lab. C の USP サリチル酸錠の溶出率の平均値と標準偏差を示し、表 9 に 3 因子完全枝分かれ実験計画による分散

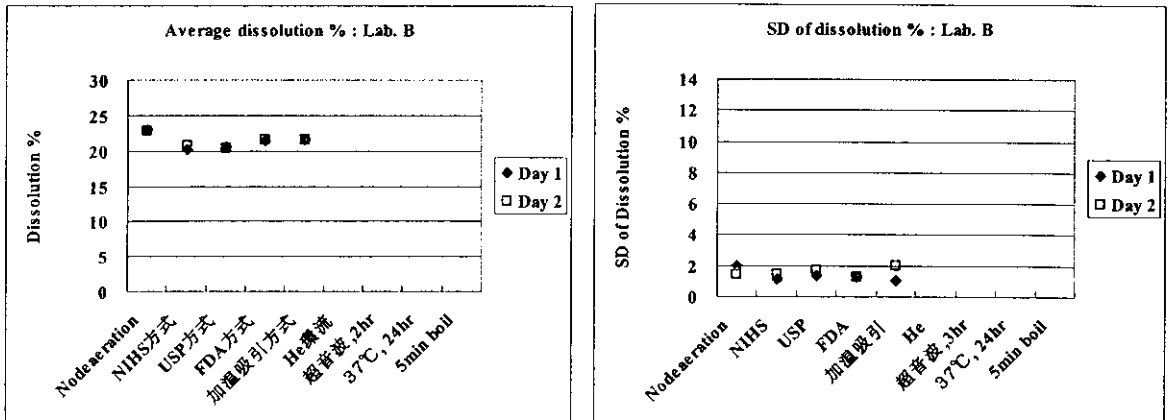


図7 USP サリチル酸錠の平均溶出率と標準偏差に及ぼす脱気方法の影響 (Lab. B)

表8 Lab. Bにおける USP サリチル酸錠の溶出率に関する分散分析表

| 変動要因  | 平方和    | 自由度 | 平均平方  | 分散比  | F <sub>0.05</sub> | F <sub>0.01</sub> |
|-------|--------|-----|-------|------|-------------------|-------------------|
| 条件    | 45.42  | 4   | 11.35 | 5.25 | 2.56              | 3.72              |
| 試験日   | 1.26   | 5   | 0.25  | 0.12 | 2.40              | 3.41              |
| 残差    | 108.18 | 50  | 2.16  |      |                   |                   |
| Total |        | 59  |       |      |                   |                   |

分析表を示した。Lab. C では、USP サリチル酸錠の平均溶出率は USP 方式が他の方式による脱気方法よりもわずかながら低い結果を与えた。ばらつきでは、どの試験法でも小さな値を示したが、USP 方式と NIHS 方式による場合が特に小さい値を示した。分散分析の結果、危険率 1%で条件間に溶出率の有意差が検出され、Tukey の多重比較の結果、USP 方式と無脱気を含む他の方式との間に有意差が検出された。Lab. C においても、規格値を外れた製剤はなかった。

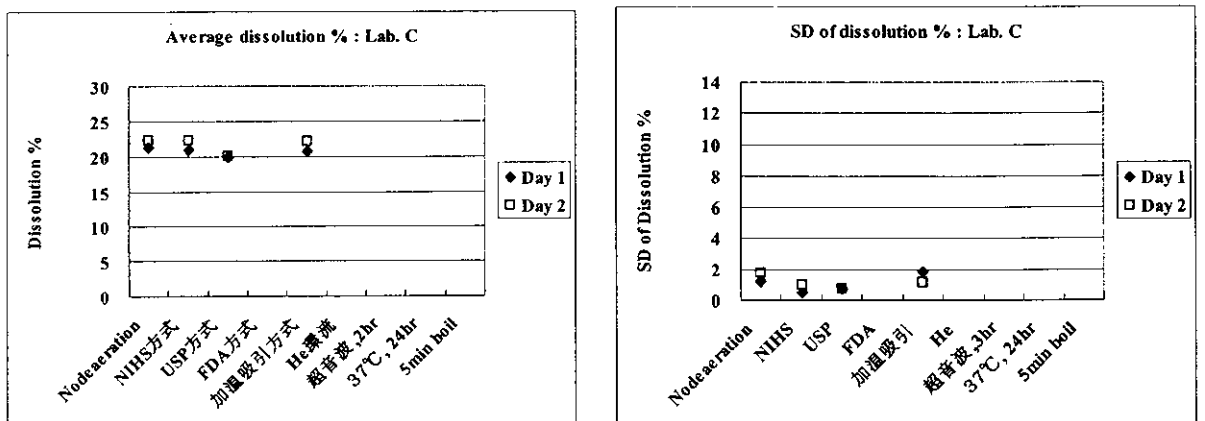


図8 USP サリチル酸錠の平均溶出率と標準偏差に及ぼす脱気方法の影響 (Lab. C)

表9 Lab. Cにおける USP サリチル酸錠の溶出率に関する分散分析表

| 変動要因  | 平方和   | 自由度 | 平均平方 | 分散比  | F <sub>0.05</sub> | F <sub>0.01</sub> |
|-------|-------|-----|------|------|-------------------|-------------------|
| 条件    | 23.71 | 3   | 7.90 | 5.77 | 2.84              | 4.31              |
| 試験日   | 12.22 | 4   | 3.05 | 2.23 | 2.61              | 3.83              |
| 残差    | 54.75 | 40  | 1.37 |      |                   |                   |
| Total |       | 47  |      |      |                   |                   |

Lab. D については、USP プレドニゾン錠の場合と同様に、USP サリチル酸錠においても NTR-5S3 による結果は集計の対象とはしなかった。図 9 に Lab. D における各脱気方法によって調製した試験液を使用したときの USP サリチル酸錠の溶出率の平均値と標準偏差を示し、表 10 に 3 因子完全枝分かれ実験計画による分散分析表を示した。Lab. D においては、USP プレドニゾン錠とは異なり USP サリチル酸錠では、試験日間のばらつき及び試験内のばらつきは小さかった。USP サリチル酸錠の平均溶出率は NIHS 方式、USP 方式及び煮沸方式では他の方式による試験に比較して低かった。分散分析の結果、危険率 1% で条件間に溶出率の有意差が検出され、Tukey の多重比較の結果、NIHS、USP 及び煮沸方式と 37℃ 平衡方式との間に有意差が検出された。

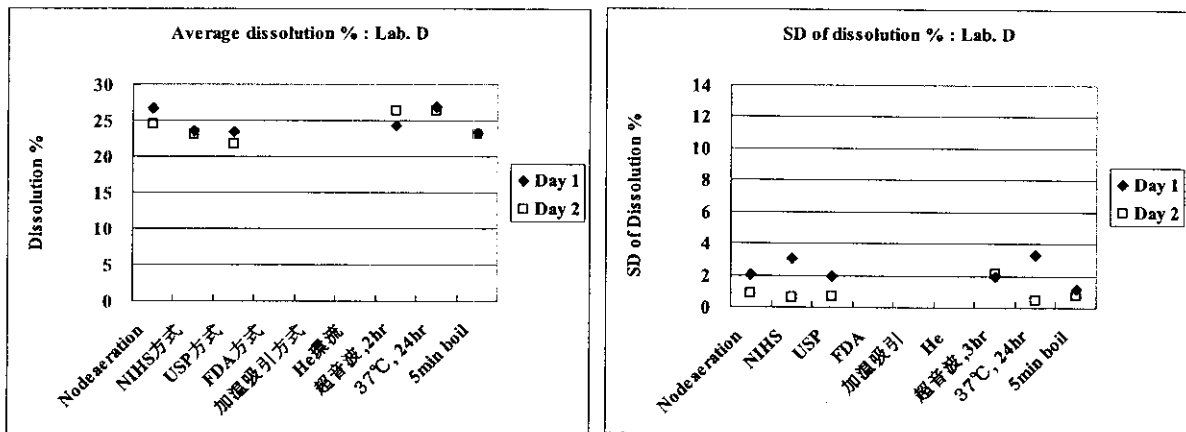


図9 USP サリチル酸錠の平均溶出率と標準偏差に及ぼす脱気方法の影響 (Lab. D)

表10 Lab. D における USP サリチル酸錠の溶出率に関する分散分析表

| 変動要因  | 平方和   | 自由度 | 平均平方  | 分散比  | F <sub>0.05</sub> | F <sub>0.01</sub> |
|-------|-------|-----|-------|------|-------------------|-------------------|
| 条件    | 77.93 | 5   | 15.59 | 4.57 | 2.62              | 3.90              |
| 試験日   | 20.31 | 6   | 3.38  | 0.99 | 2.51              | 3.67              |
| 残差    | 81.86 | 24  | 3.41  |      |                   |                   |
| Total |       | 35  |       |      |                   |                   |

## 2.2 全試験室の集計結果

USP プレドニゾン錠と同様に、USP サリチル酸錠の溶出速度に及ぼす無脱気、NIHS 及び USP 方式の影響について、4 因子完全枝分かれ実験計画に従って分散分析を行った。なお、Lab. D の結果は、ここでの解析の対象からは除外した。

図 10 に、USP サリチル酸錠について、Lab. A, B 及び C の結果をプロットし、分散分析の結果を表 11 に示した。条件間及び試験室間において有意差が検出された。Tukey の多重比較によって、どの脱気条件間においても互いに有意差が認められたが、その差は 2% 以内と小さかった。また、試験室間では有意差が認められなかった。

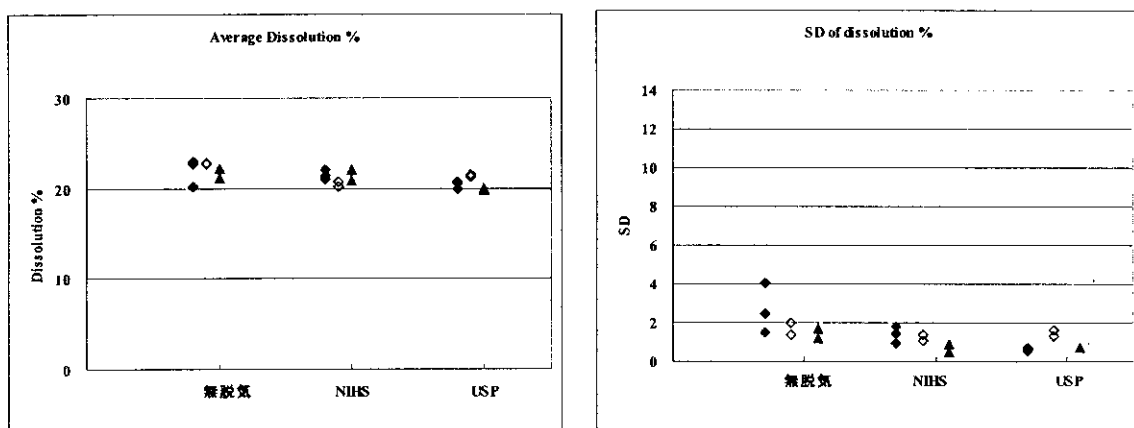


図 10 USP サリチル酸錠の平均溶出率と標準偏差に及ぼす脱気方法の影響

(◆ Lab. A, ◇ Lab. B, ▲ Lab. C)

表 11 試験室共同実験における USP サリチル酸錠の溶出率に関する分散分析表

| 変動要因  | 平方和    | 自由度 | 平均平方  | 分散比   | F <sub>0.05</sub> |
|-------|--------|-----|-------|-------|-------------------|
| 条件    | 70.82  | 2   | 35.41 | 46.95 | 3.08              |
| 試験室   | 20.16  | 6   | 3.36  | 4.45  | 2.19              |
| 試験日   | 41.10  | 12  | 3.42  | 4.54  | 1.85              |
| 残差    | 256.84 | 105 | 2.45  |       |                   |
| Total |        | 125 |       |       |                   |

## 3. アラセプリル錠

### 3.1 試験室別結果

図 11 に、各脱気方法によって調製した試験液を使用したときの、Lab. A のアラセプリル錠の溶出率の平均値と標準偏差を示した。Lab. A においては、NIHS 方式、USP 方式、He 環流方式では、アラセプリル錠の平均溶出率は低く、一方、FDA 方式及び無脱気では高かった。表 12 に 3 因子完全枝分かれ実験計画による分散分析表を示した。危険率 1% で条件間に溶出率の有意差が検出された。Tukey の多重比較の結果、FDA 方式及び無脱気の結果