

と、NIHS、USP 及び He 環流方式による結果との間で有意差が検出された。また、NIHS 方式は、USP 及び He 環流方式に比較して有意に溶出率が高かった。ばらつきの程度は、小さかった。

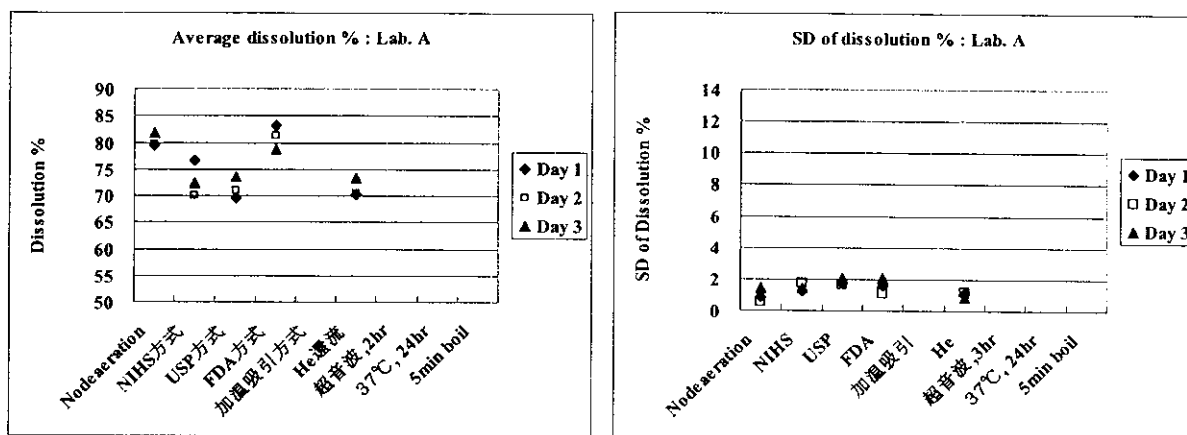


図 11 アラセプリル錠の平均溶出率と標準偏差に及ぼす脱気方法の影響 (Lab. A)

表 12 Lab. A におけるアラセプリル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	1720.86	4	430.21	203.36	2.49	3.58
試験日	294.85	10	29.49	13.94	1.96	2.57
残差	158.66	75	2.12			
Total		89				

図 12 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 のアラセプリル錠の溶出率の平均値と標準偏差を示し、表 13 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 においても、Lab. A とほぼ同様の傾向が見られた。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、FDA 方式及び無脱気の結果と、NIHS、USP 及び加温吸引方式による結果との間で有意差が検出された。

表 13 Lab. B におけるアラセプリル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	1267.05	4	316.76	84.56	2.56	3.72
試験日	9.22	5	1.84	0.49	2.40	3.41
残差	187.30	50	3.75			
Total		59				

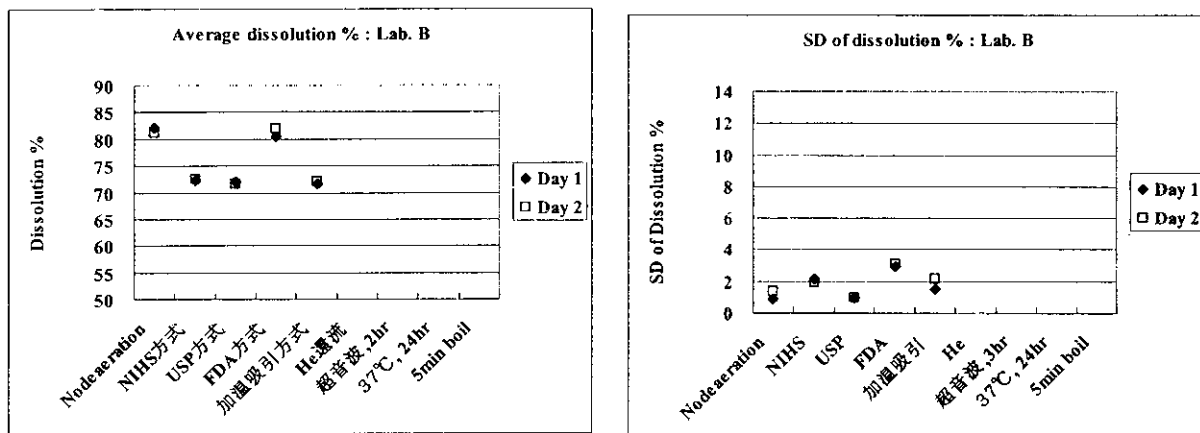


図 12 アラセプリル錠の平均溶出率と標準偏差に及ぼす脱気方法の影響 (Lab. B)

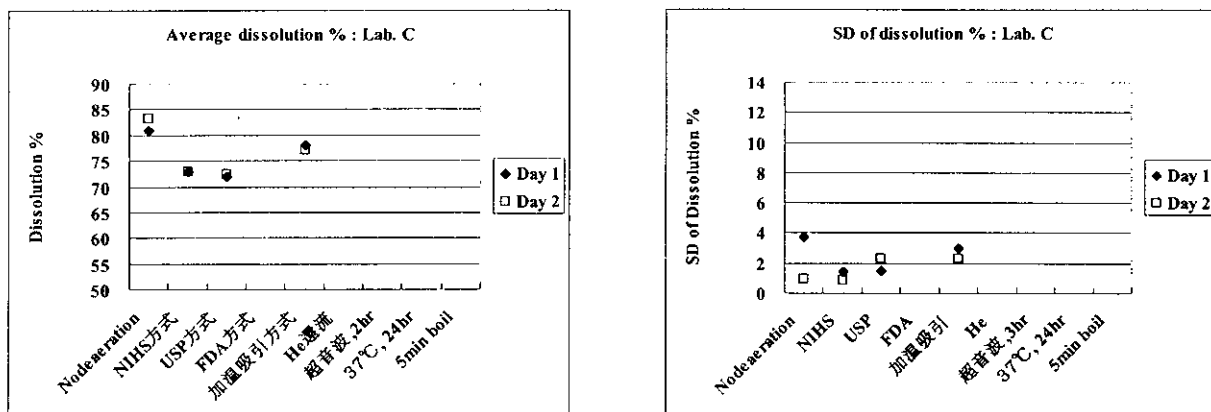


図 13 アラセプリル錠の平均溶出率と標準偏差に及ぼす脱気方法の影響 (Lab. C)

表 14 Lab. C におけるアラセプリル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	746.10	3	248.70	50.74	2.84	4.31
試験日	23.00	4	5.75	1.17	2.61	3.83
残差	196.06	40	4.90			
Total		47				

図 13 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 のアラセプリル錠の溶出率の平均値と標準偏差を示し、表 14 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、アラセプリル錠の平均溶出率は NIHS 方式及び USP 方式で低く、無脱気で最も高く、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、NIHS 方式及び USP

方式と、無脱気及び加温吸引方式分との間では有意差が検出された。また、無脱気と加温吸引方式分との間でも有意差が検出された。

Lab. D については、USP プレドニゾン錠及び USP サリチル酸錠の場合と同様に、アラセプリル錠においても NTR-5S3 による結果は集計の対象とはしなかった。図 14 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. D では、同一脱気条件の試験日間、試験内のばらつきが大きい傾向が認められた。アラセプリル錠の平均溶出率は NIHS 方式及び 37°C 平衡方式において、高い値を示した。表 15 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。分散分析の結果、危険率 5% 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、煮沸方式と NIHS 及び 37°C 平衡方式との間に有意差が検出された。

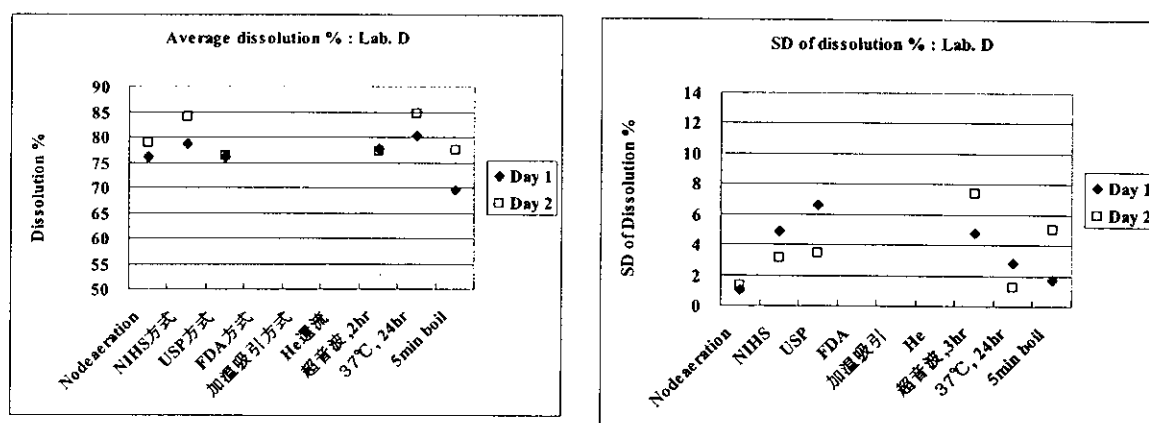


図 14 アラセプリル錠の平均溶出率と標準偏差に及ぼす脱気方法の影響 (Lab.D)

表 15 Lab. D におけるアラセプリル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	325.88	5	65.18	3.75	2.62	3.90
試験日	180.16	6	30.03	1.73	2.51	3.67
残差	417.08	24	17.38			
Total		35				

### 3.2 全試験室の集計結果

USP プレドニゾン錠、サリチル酸錠と同様に、アラセプリル錠の溶出速度に及ぼす無脱気、NIHS 方式及び 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 15 に、アラセプリル錠について、Lab. A, B 及び C の結果をプロットした。平均溶出率については、無脱気とその他の脱気方法との間で大きな差が認められた。分散分析の結果を表 16 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。また、Lab. A と他の試験室との間で有意差が認められた。

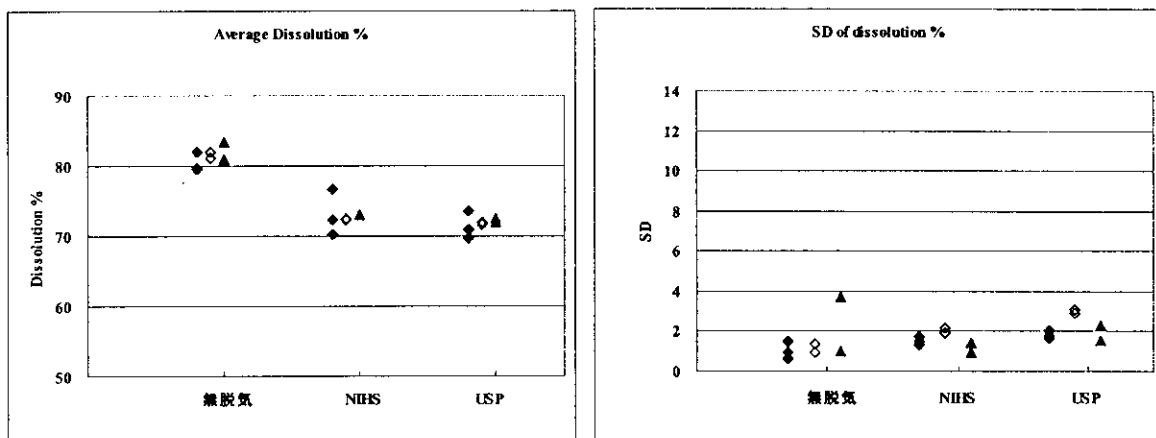


図 15 アラセプリル錠の平均溶出率と標準偏差に及ぼす脱気方法の影響

(◆ Lab. A, ◇ Lab. B, ▲ Lab. C)

表 16 試験室共同実験におけるアラセプリル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	1888.9558	2	944.48	244.83	3.08
試験室	644.67301	6	107.45	27.85	2.19
試験日	109.41299	12	9.12	2.36	1.85
残差	352.28997	105	3.36		
Total		125			

## 考察

脱気の種類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。本研究では、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、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）の妥当性を検討した。また、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 環流方式）、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）の妥当性も検討した。マーカーとしては、USP の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のアラセプリル錠を用いた。

3 種類のマーカー製剤による結果を総合して考察を行った。

NIHS 方式と USP 方式との間で有意差が検出されたのは、アラセプリル錠をマーカーとしたときの Lab. A における試験のみであったが、この差は 2%以下であり、溶出試験上あ

まり意味のある差ではない。その他の試験室においても両者の結果間で大きな差は観察されなかった。このことより、NIHS 方式の脱気の方法は十分と考えられ、溶出試験の脱気の方法として妥当と考えられた。

Lab. A 及び B で検討された FDA 方式は、アラセプリル錠では両試験室とも無脱気と同程度の溶出率の上昇が観測され、プレドニゾン錠においても Lab. A では無脱気と同程度の溶出率の上昇が観測された。FDA 方式は脱気の方法としては簡便であるが、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。

Lab. B 及び C 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、試験室 C において若干 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、溶出試験の脱気方法として、満足できると考えられた。

Lab. A で検討された 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。

煮沸法、超音波法及び 37℃平衡法は、Lab. D において検討された。5 分間煮沸する方法は、3 つのマーカで共通して USP 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。しかし、超音波法及び 37℃平衡法については、Lab. D における試験日間、試験内のばらつきが非常に大きかったため、明確な結果が得られなかった。

今回用いた 3 つのマーカの中では、アラセプリル錠の溶出速度が脱気方法によって最も大きく変動し、一方、試験内のばらつきが小さかった。このことから、今回用いた市販アラセプリル錠（セタプリル錠）は、試験液の脱気の方法を qualification するためのカリブレータとして使用できることが示唆された。USP プレドニゾン錠も、溶出速度が脱気の方法によって大きく変動したが、試験内のばらつきの程度はアラセプリル錠よりも大きい傾向にあった。しかし、試験液の脱気の方法を qualification するためのカリブレータとしての機能は十分有すると判断された。サリチル酸錠は試験液の脱気の方法による変動が少なく、パドル法における試験液の脱気の方法を qualification するためのカリブレータとしては適切でないと判断された。

サリチル酸錠を除いて、アラセプリル錠とプレドニゾン錠では、溶出試験結果に試験室差が観察された。

## 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。

## 謝辞

溶出試験器 VK7000 (Vankel 製) の使用を快くお引き受けいただきました株式会社ユニフレックスの服部 晃氏及びスタッフの皆様、実験にご協力いただきました桑原 章氏、株式会社ユニフレックスの田波 寿郎博士に、心より感謝いたします。

## Appendix A

### USP プレドニゾン錠 10 mg (Lot M) 溶出試験法

#### 試験液の調製

1. 試験液には水、500mL を用いる。
2. 各試験室の溶出試験器に対応した方法で試験液をベッセルに供給する。

#### 製剤の準備

1. 容器に 1～6 の番号をふる。
2. USP プレドニゾン錠の重量を測定（小数点以下 1 桁）記録した後、1 個ずつ容器に入れる。

#### 溶出試験

1. パドル法、50rpm、37℃で行う。
2. ベッセル 1～6 に容器 1～6 の製剤を割り付ける
3. 試験を開始する。
4. 30 分後にサンプリングを行う。
5. フィルター：各試験室の溶出試験器ごとに指定されたフィルターを使用する。可能な場合は 0.45 $\mu$ m Hydrophilic PVDF Membrane filter (ミリポア) に近いものを使用する。使用した filter の銘柄名、型番を記録しておく。
6. サンプリングは、フローセル、フラクシオンコレクター、又は手動。
7. 検出：242 nm における吸光度。

#### 標準溶液の調製

1. 配布されたプレドニゾン標準品 10 mg を正確に量り（小数点以下 2 桁）記録した後、エタノール 10mL を加えて溶かす。水で 500 mL にする。プレドニゾンが完全に溶けていることを確認する。

## Appendix B

### USP サリチル酸錠 300 mg (Lot O) 溶出試験法

#### 試験液の調製

1. 試験液には 0.05M リン酸緩衝液 (pH 7.40±0.05、室温) 900mL を用いる。
2. 試験液の調製
  - (ア) 0.2M monobasic potassium phosphate (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) 溶液の調製: KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 27.22 g に水を加えて 1000mL とする。
  - (イ) 0.2M sodium hydroxide (NaOH) 溶液の調製: NaOH 8.00g に水を加えて 1000mL とする。
  - (ウ) 0.2M hydrochloric acid (HCl) 溶液の調製: 塩酸 17 mL を取り水を加えて 1000 mL とする。
  - (エ) 0.2M monobasic potassium phosphate 溶液 50 mL を 200mL のフラスコへ入れ、0.2M sodium hydroxide 溶液を加えて pH 7.40 に調製する。0.2M sodium hydroxide 溶液の添加量の目安は 39.1 mL である。(イ) 又は (ウ) の溶液で pH を調整した後に、水で全量を 200 mL とする。
3. 各試験室の溶出試験器に対応した方法で試験液をベッセルに供給する。

#### 製剤の準備

1. 容器に 1～6 の番号をふる。
2. USP サリチル酸錠の重量を測定 (小数点以下 1 桁) 記録した後、1 個ずつ容器に入れる。

#### 溶出試験

1. パドル法、100rpm、37°Cで行う。
2. ベッセル 1～6 に容器 1～6 の製剤を割り付ける
3. 試験を開始する。
4. 30 分後にサンプリングを行う。
5. フィルター: 各試験室の溶出試験器ごとに指定されたフィルターを使用する。可能ならば 0.45µm Hydrophilic PVDF Membrane filter (ミリポア) に近いものを使用する。使用した filter の銘柄名、型番を記録しておく。
6. サンプリングは、フローセル、フラクシオンコレクター、又は手動。
7. 検出: 手動で測定する場合には、採取された溶液を 2 倍に希釈して 296 nm における吸光度。フローセルを使用する場合には、適当な波長を選択する。

#### 標準溶液の調製

1. 配布されたサリチル酸標準品 30 mg を正確に量り (小数点以下 2 桁)、エタノール 5 mL を加えて溶かし、試験液で 500 mL にする。サリチル酸が完全に溶けていることを確認する。
2. マニュアルで測定する場合には、測定時に 2 倍希釈して吸光度を測定する。



## Appendix C

### アラセプリル錠溶出試験法

#### 試験液の調製

1. 試験液には水、900mLを用いる。
2. 各試験室の溶出試験器に対応した方法で試験液をベッセルに供給する。

#### 製剤の準備

1. 容器に1～6の番号をふる。
2. セタプリル錠の重量を測定（小数点以下1桁）記録した後、1個ずつ容器に入れる。

#### 溶出試験

1. パドル法、50rpm、37°Cで行う。
2. ベッセル1～6に容器1～6の製剤を割り付ける
3. 試験を開始する。
4. 30分後にサンプリングを行う。
5. フィルター：各試験室の溶出試験器ごとに指定されたフィルターを使用する。可能な  
らば0.45 $\mu$ m Hydrophilic PVDF Membrane filter（ミリポア）に近いものを使用する。  
使用した filter の銘柄名、型番を記録しておく。
6. サンプリングは、フローセル、フラクシオンコレクター、又は手動。
7. 検出：230及び300 nmにおける吸光度を測定する。

#### 標準溶液の調製と測定

配布されたプレドニゾン標準品15 mgを正確に量り（小数点以下2桁）記録した後、エタノール15mLを加えて溶かす。水で500 mLにする。プレドニゾンが完全に溶けていることを確認する。230及び300 nmにおける吸光度を測定する。

#### 溶出率の計算

プレドニゾン標準溶液の吸光度に対する試験液の吸光度の比（パーセンテージ）を見かけの溶出率とする。

## 資料 2

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」

—溶出試験液の脱気方法と溶存酸素量の関係—

分担研究員

四方田千佳子

国立医薬品食品衛生研究所食品添加物第一室長

研究班の4機関で、種々の脱気方法による溶出試験を実施し、平行して同条件下における溶存酸素量の測定を行った。溶存酸素量を一つの指標として脱気の評価し、溶存酸素量と溶出率の関連を明らかにすることを試みた。

## 1. 実験方法

### 1-1. 溶出試験方法及び脱気方法

資料1に記載の方法で行ったが、試験液の脱気に特に使用した装置は以下のものであった。USP方式：フィルターろ過では、多量の溶媒を連続してろ過するために、Gelman社製 SolVac™ フィルターホルダーを使用した。フィルター径は47mmであった。ただし、Lab.Aでは、迅速にろ過する事を目指して29cm径のフィルターを大型ヌッチェにのせて使用した。FDA方式：一定の減圧度を確保するため、BÜCHIのVacuum Controller V-800を使用した。

### 1-2. 溶存酸素の測定

ORION社製センサーリンクPCM800に酸素電極を接続し、水900mLを試験液として、37℃、パドル法50rpmで溶存酸素の測定を行う。各方法で脱気した試験液をベッセルに静かに注ぎ、キャリブレーションをすませたセンサーリンクPCM800を取り付け、37±0.5℃に達した時点で測定を開始する。30秒毎にデータ収集しながら1時間測定を行う。各脱気法につき同様の測定を2回ずつ行う。

### 1-3. 脱気試験液のpH測定

それぞれの脱気方法で脱気した溶出試験液900mlをベッセルに注入し、37℃になった後pHを経時的に測定した。Lab.A：20分ごとに3回、約200mLをビーカーにとりpHを測定した。Lab.B：それぞれの方法で脱気した試験液900mLを注ぎ、ORIONセンサーリンクPCM700pHプローブをセットし、30秒に一回のサンプリング間隔で1時間測定した。

## 2. 結果

### 2-1. 脱気法による溶存酸素量の差

Lab.A～Lab.Dにおける、各脱気法により調製した試験液中の酸素飽和度の変化を図1に示した。縦軸に酸素飽和度(%)を、横軸に時間をとると、比較的溶存酸素量が少なくよく脱気が進んでいるLab.AのHe環流、Lab.B、Lab.C、Lab.DにおけるUSP法、Lab.Bの加温吸引(5分)、Lab.Dの煮沸では、時間と共に徐々に酸素飽和度が上がる傾向が見られたが、その他の場合にはほぼ横這いか、徐々に飽和酸素量が減少した。Lab.AのUSP法では、他機関に較べて測定開始時の酸素飽和度の低下があまり見られない。これは、実験法の項に記載したように、減圧ろ過の装置が異なるためと思われ、減圧ろ過フィルターの面積が通常より広く、ろ過時の減圧度が低くならないために脱気効率が悪いものと思われた。

また、Lab.B に見られるように、全自動溶出試験機の脱気法として採用されている加温吸引では、吸引時間が1分と5分では酸素飽和度が大きく異なり、5分とすると USP 法と同等となっている。Lab.C で、加温吸引1分では、NIHS 法と同程度となった。この全自動溶出試験器における初期設定では、吸引時間は1分となっていた。Lab.D では、その他の方法として、超音波2時間も試みられたが、無脱気との差は認められなかった。これらの結果より、酸素飽和度を指標とした脱気の程度は、無脱気=FDA 法<超音波<NIHS 法<加温吸引<USP 法<煮沸<He 環流の順に高くなると思われた。

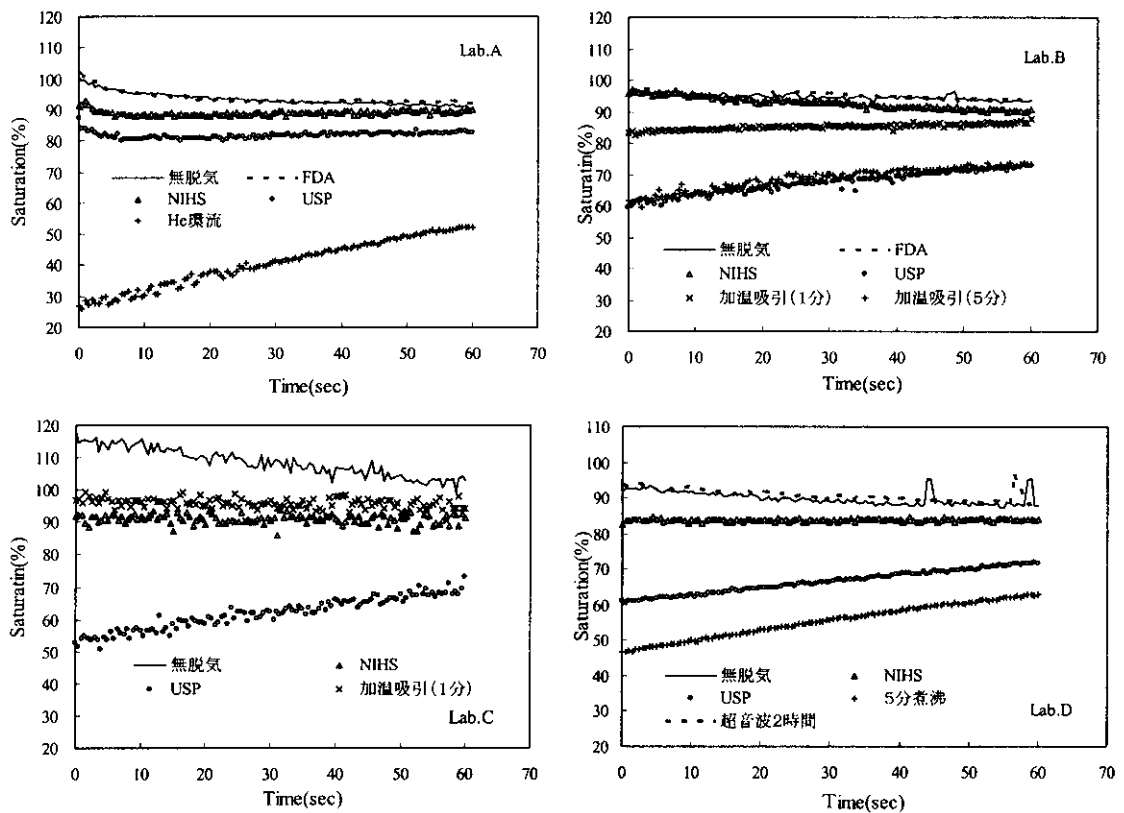


図 1. 各脱気法における試験液中の酸素飽和度の経時変化

また、図 1 の結果から、溶出試験におけるサンプリング時間である 30 分後の酸素飽和度の値を機関ごとに表 1 にまとめた。ただし、Lab.B では溶出試験を行った加温吸引 5 分のみ

表 1 脱気試験液中の測定開始後30分における溶存酸素量(飽和%) (n=2)

	脱気方法								
	無脱気	FDA	NIHS	USP*	He環流	加温吸引**	超音波, 2hr 37°C, 24hr	煮沸5min	
Lab.A	92.5±0.28	92.75±2.90	89.05±0.78	81.65±15.06	41.25±1.91	-	-	-	-
Lab.B	94.57±3.09	96.03±3.45	93.37±1.54	70.1±9.01	-	69.6±7.23	-	-	-
Lab.C	107.15±0.78	-	90.65±1.20	62.4±0.71	-	96.6±4.53	-	-	-
Lab.D	88.9±1.6	-	83.35±0.92	66.45±9.40	-	-	91.1±0.28	85±5.80	55.6±7.78

\*USP法におけるフィルターろ過で、Lab.Aは29cm、その他のLabでは47mmの水系フィルターを使用した。

\*\*加温吸引は41°Cに加温した試験液を600mmHgで吸引するが、吸引時間はLab.Bでは5分、Lab.Cでは1分。

の値を示した。また、Lab.Cでは、無脱気の0時間における値が115%程度と他機関より大きく、キャリブレーションの部分で何らかの操作の違いがあったのかも知れない。

## 2-2. 各錠剤の溶出率と酸素飽和度の関係

各機関における脱気法を変えた場合のプレドニゾン錠の30分後の溶出率を表2に示した。

表2 プレドニゾン錠の各脱気法による溶出試験結果(%) (n=2)

	脱気方法								
	無脱気	FDA	NIHS	USP	He環流	加温吸引	超音波, 2hr	37°C, 24hr	煮沸5min
Lab.A	40.8±2.8	43.5±3.2	33.2±3.0	36.0±4.2	34.6±2.9	-	-	-	-
Lab.B	40.3±3.7	35.5±3.5	35.2±2.5	34.2±2.2	-	34.8±3.9	-	-	-
Lab.C	33.8±2.1	-	32.0±1.7	29.5±1.9	-	31.4±3.1	-	-	-
Lab.D	57.1±10.4	-	47.2±12.5	44.5±7.5	-	-	50.0±12.6	44.1±10.1	38.5±7.94

プレドニゾン錠のUSPによる溶出率の規格値は23~42%であり、Lab.Dにおける大部分の値が規格値を上回っていた。Lab.Dでは、試験液の採取用チューブが常時試験液に浸っている旧型の3連の溶出試験器を使用していたため、装置のバリデーションに問題があったのではないかと思われた。

同様にサリチル酸錠、アラセプリル錠における溶出試験結果を表3、表4に示した。

表3 サリチル酸錠の各脱気法による溶出試験結果(%) (n=2)

	脱気方法								
	無脱気	FDA	NIHS	USP	He環流	加温吸引	超音波, 2hr	37°C, 24hr	煮沸5min
Lab.A	22.0±2.7	22.6±2.8	21.5±1.4	20.5±0.6	21.0±0.8	-	-	-	-
Lab.B	22.8±1.7	21.4±1.5	20.4±1.3	20.4±1.3	-	21.5±1.5	-	-	-
Lab.C	21.7±1.5	-	21.5±0.7	19.9±0.7	-	21.3±1.5	-	-	-
Lab.D	28.3±3.4	-	26.1±3.5	24.3±2.3	-	-	26.5±2.1	28.5±3.1	24.6±1.7

サリチル酸錠のUSPの規格は23~42%であり、いずれの測定値も規格範囲であったが、Lab.Dの溶出率は全体に高くなっていた。アラセプリル錠においても、Lab.Dの溶出率は全体的に高かった。

表4 アラセプリル錠の各脱気法による溶出試験結果(%) (n=2)

	脱気方法								
	無脱気	FDA	NIHS	USP	He環流	加温吸引	超音波, 2hr	37°C, 24hr	煮沸5min
Lab.A	80.4±1.0	81.1±1.6	73.0±1.5	71.3±1.8	71.3±1.1	-	-	-	-
Lab.B	81.5±1.1	81.1±0.9	72.3±2.0	71.8±3.0	-	71.8±1.8	-	-	-
Lab.C	82.1±2.3	-	73.0±1.2	71.3±1.9	-	77.6±2.6	-	-	-
Lab.D	79.0±2.6	-	83.8±3.6	81.0±6.0	-	-	82.1±6.1	84.7±2.3	78.7±6.4

各錠剤の溶出率と表1の酸素飽和度の関係を図示し、図2~図4に示した。溶出率、酸素飽和度ともに2回の測定標準偏差をそれぞれバーで示した。いずれの錠剤においても、酸素飽和度が低くなるに連れて溶出率が小さくなる傾向は認められるものの、それぞれの測定のばらつきがかなり大きい。Lab.Dではすべての錠剤で、溶出率が高くなる傾向が明らかであり、標準偏差も大きい傾向が認められる。サリチル酸錠では、脱気による溶出率の変化は顕著ではない。プレドニゾン錠では、無脱気では溶出率は大きいがその他の脱気法間では大きな差は認められない。最も脱気の影響を受けたのは、アラセプリル錠であり、

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、90%以上になると急激に溶出率が増加した。90%以下の酸素飽和度ではほぼ一定の溶出率が得られるのは、他の二つの錠剤でも同様であった。

以上の3種の錠剤における検討より、溶存酸素量を指標とした場合、脱気により酸素飽和度が90%以下とすると脱気方法の影響をほぼなくすことができると考えられた。Lab.Dでは、全体に酸素飽和度が低いためLab.Dに特異的な方法では80%以下となっている方法のみを採ると、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。

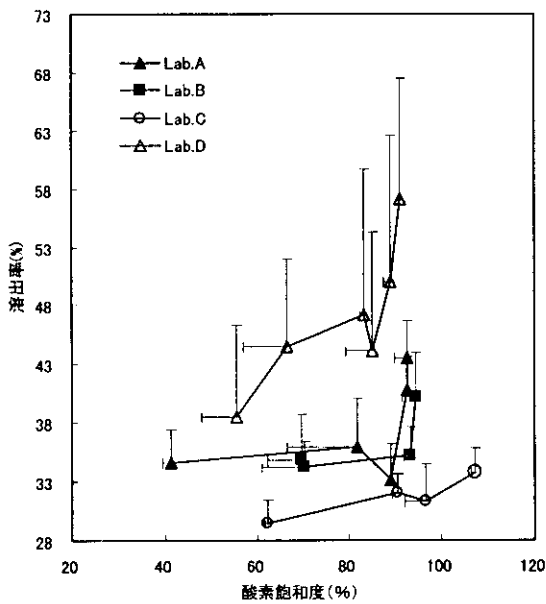


図2 プレドニゾン錠の溶出率と溶存酸素量の関係

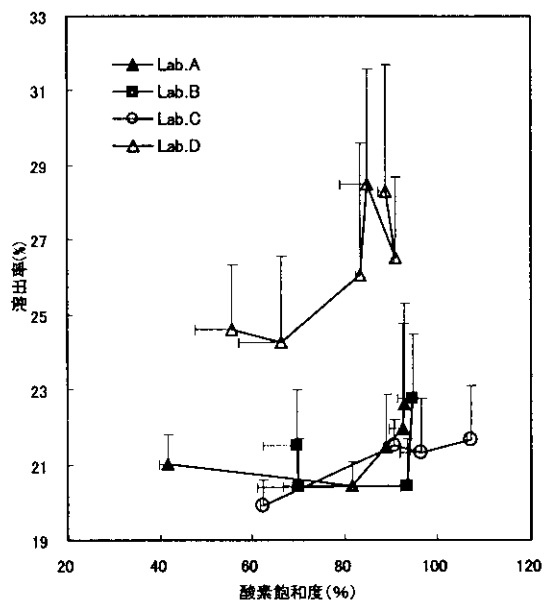


図3 サリチル酸錠の溶出率と溶存酸素量の関係

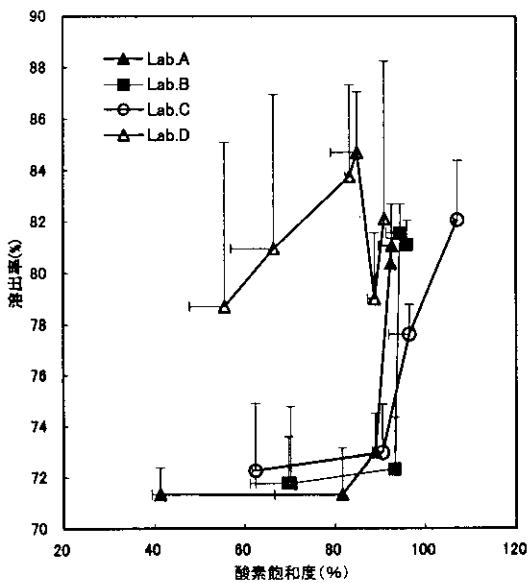


図4 アラセプリル錠の溶出率と溶存酸素量の関係

### 2-3. 試験液脱気後の pH の変化

溶出試験液の脱気の影響としては、炭酸ガスの影響が大きいという指摘があるため、溶存炭酸ガスの選択電極による測定を試みたが、感度が不足で測定不能であった。そこで、溶存炭酸ガスの変化を捉える指標として試験液の pH 測定を試みた。

Lab.A, Lab.B における測定結果をそれぞれ図5, 図6に示した。

無脱気の試験液の pH に差があるため直接比較できないが、測定中の pH 変化は測定開始時の pH 順位をほぼ保っており、Lab.A では pH の低い順に無脱気、NIHS

法, USP 法, FDA 法, He 環流法であり, Lab.B では無脱気, FDA 法, NIHS 法, USP 法, 加温吸引法の順となっている. Lab.A の FDA 法を除くと溶存酸素量が少ないほど pH が高いということになり, pH が溶存二酸化炭素量を反映するとすると, 溶存酸素量と二酸化炭素量もほぼ平行となっていると思われる.

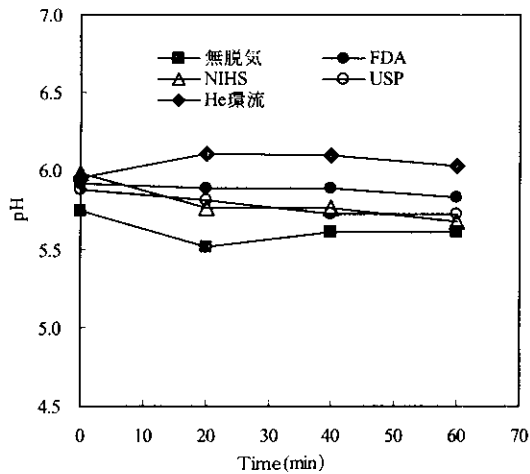


図5 Lab.Aにおける脱気試験液のpH変化

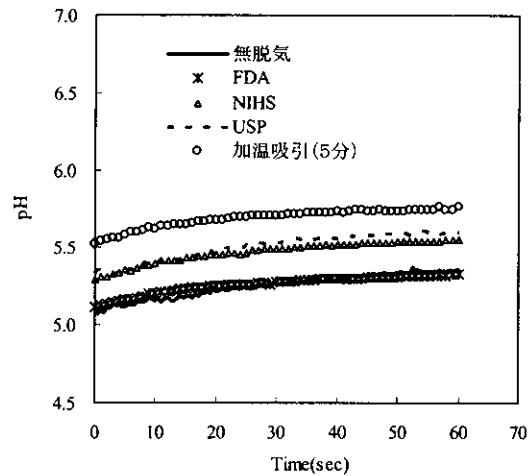


図6 Lab.Bにおける脱気試験液のpH変化

### 3. 結論

溶出試験液の脱気方法と溶存酸素量の関係を明らかにした. 溶出試験結果が脱気方法に最も依存したのはアラセプリル錠であり, ついでプレドニゾン錠も若干依存したが, サリチル酸錠ではほとんど影響はないと思われた.

溶存酸素量を指標とすると, 溶出試験結果への脱気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.

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）

分担研究報告書

溶出試験の変動要因の解明及びその制御に関する研究

分担研究者 鈴木英世 富山県薬事研究所

研究要旨 USP の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のアラセプリル錠を用いて、溶出試験の変動要因のひとつといわれる試験液の脱気方法が溶出率に与える影響について検討した。その結果、脱気方法の違いにより試験液中の溶存酸素量が異なり、それに連動する形で溶出試験結果が変動する場合のあることが分かった。

協力研究者  
渡会三千代 富山県薬事研究所  
薬剤薬理研究課研究員

A. 研究目的

溶出試験を実施する上で、試験機関間だけでなく同一試験室内においても試験結果が変動する経験をすることがある。その原因のひとつと考えられる試験液の脱気方法の影響について実験を行った。現在、日局においては「通例、試験液は使用前に適当な方法で脱気する。」との記載がされているのみであり、具体的な方法についてはふれられていない。実際試験をする場合は、試験中気泡が発生しない程度を目安としている。今回は脱気の程度を評価する指標として、試験液中の溶存酸素量を測定し、さらに脱気条件の影響を受けやすいとされる製剤を用い溶出試験を行い、脱気方法と試験液中の溶存酸素量及び溶出率の関連について調べた。

B. 研究方法

1. 試料

USP のカリブレータであるプレドニゾン錠(ロット M)、サリチル酸錠(ロット O)及び市販のアラセプリル錠を用いた。

2. 脱気方法

今回行った脱気法は以下の4つである。

- ①USP 法：試験液を攪拌しながら 41℃に加温，直ちに吸引しながら(140 – 150mmHg), 0.45µm のフィルターを通してろ過する。吸引時間は5分，吸引中は37℃に保温し，試験液を攪拌する。
- ②NIHS 法：試験液を攪拌しながら，45℃に2時間保持する。
- ③試験装置の標準的方法：41℃に加温した試験液を1分間吸引(600mmHg)する。
- ④無脱気：脱気を行わない。

なお，今回用いた試験液及び試験液の調製に用いた水はイオン交換水であり，精製直後は水温が低かったことから，室温に一晚以上放置した後，脱気操作を行った。

3. 溶存酸素の測定



水 900mL, パドル法, 50rpm, 37℃で溶出試験器を動かしながら溶存酸素の測定を行う。各方法で脱気した試験液をベッセルに注ぎ, ORION 社製センサーリンク PCM800 で試験液の温度が 37℃に達した後, 1 時間溶存酸素の測定を行う。測定は各脱気法につき, 日を変えて 2 回行った。

#### 4. 溶出試験

溶出試験は第 14 改正日本薬局方の第 2 法(パドル法)に従い, (株)大日本精機製溶出試験器で行った。試験液に溶解している薬物は紫外外部吸光度法で定量した。プレドニゾン錠は 242nm, サリチル酸錠は 296nm を検出波長とした。アラセプリル錠は 2 波長法で行い,  $\lambda_1$  を 230nm,  $\lambda_2$  を 300nm とした。試験液にはプレドニゾン錠, アラセプリル錠には水を, サリチル酸錠には 0.05M リン酸緩衝液 (pH7.4±0.05) を使用した。試験は各脱気法につき日を変えて 2 回行った。

### C. 研究結果

#### 1. 試験液の溶存酸素

試験液中の溶存酸素量は NIHS 方式, 試験装置の標準的な方式では約 90~100%程度となり, 試験中に気泡が発生する事はなかった。無脱気は溶存酸素量が 100%を超え過飽和となり試験中にベッセル及びパドルに気泡が付着した。逆に USP 方式では飽和溶存酸素量の約 60%となり, 今回行った脱気方法の中では最も強く脱気されていた。(図 1)

#### 2. 各製剤の溶出率

プレドニゾン錠の溶出率は 1 回の試験の

6 つのベッセルの平均値で比較した場合, USP 方式が最も低く, 無脱気が高かった。NIHS 方式及び試験装置の標準的な方法は USP 方式と無脱気の間の中間の溶出率を示した(表 1)。サリチル酸錠では, 1 回の試験の 6 つのベッセルの平均値は USP 方式が他の脱気方法よりも低い値を示したが他の 3 つの方法に差は見られなかった(表 2)。アラセプリル錠では USP 方式が最も低く, NIHS 方式, 試験装置に標準的な方法, 無脱気の順で溶出率が高くなった(表 3)。

なお, USP のカリブレータであるプレドニゾン錠及びサリチル酸錠は試験したすべての製剤でどの脱気法で試験を行っても規格値(プレドニゾン錠; 23~42%, サリチル酸錠; 17~26%)に適合した。

### D. 考察

溶存酸素が最も低かった USP 方式が他の脱気法に比べて, 3 つの製剤すべてで 1 回の試験の 6 つのベッセルの平均値が他の脱気法の試験結果より, 低くなった。一方溶存酸素の値が最も高かった無脱気ではプレドニゾン錠, アラセプリル錠の 2 つで溶出率が他の脱気法より高くなった。各錠剤の個々のデータのばらつきは大きいものの, 試験液の脱気方法により, 試験液中の溶存酸素量が異なり, 製剤によっては溶存酸素量と溶出率の間に関連がみられる様である。

今回使用した水はイオン交換水だったため, 脱気しない状態では溶存酸素量が多かったが, 試験に用いる水の精製法によっては脱気前の時点の溶存酸素量が異なることが考えられるため, 脱気法とあわせて使用する水の精製法も試験結果に影響を及ぼすことが十分考えられる。

### E. 結果

USP の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のアラセプリル錠を用いて、溶出試験の変動要因のひとつといわれる試験液の脱気方法が溶出率に与える影響について検討した。今回行った、USP 方式、NIHS 方式、溶出試験装置に標準的な方式及び無脱気の4つの脱気方法の中では USP 方式で脱気した試験液中の溶存酸素量が最も低い値を示した。逆に無脱気は最も高い溶存酸素量となり、他の二つはそれらの中間の値を示した。個々の錠剤間のばらつきはあるものの、各製剤の溶出率は溶存酸素量が低いほど低く、高いほど高

くなる傾向を示した。脱気方法が違えば試験液中の溶存酸素濃度が異なり、溶出試験結果にも影響する場合があることが分かった。

### F. 研究発表

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—，医薬品研究，2002，Vol.33，No.1：8-16

### G. 知的所有権の取得

なし

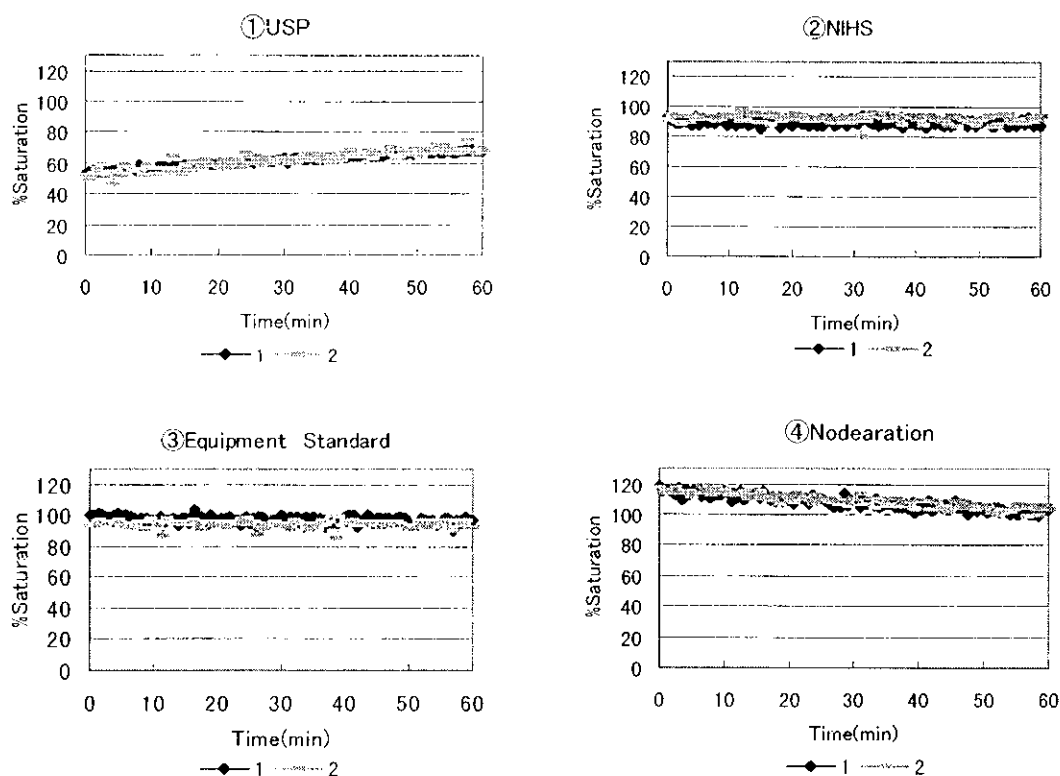


Fig.1 %Saturation of Dissolved Oxygen in Test Solutions

**Table 1 Dissolution Rate of Prednisone Tablets**

	USP1	USP2	NIHS1	NIHS2	Equipment Standard 1	Equipment Standard 2	Nodearation 1	Nodearation 2
1	30.2	30.9	35.1	32.7	32.4	32.3	33.9	35.1
2	33.1	30.9	34.4	30.3	37.3	34.7	38.3	36.3
3	30.4	28.1	32.5	32.1	32.1	32.3	34.7	34.2
4	25.8	27.9	31.1	29.7	28.0	27.5	32.6	30.6
5	31.0	31.0	30.4	30.2	29.7	31.7	33.4	32.1
6	29.2	30.0	35.5	32.2	33.4	27.1	34.2	32.1
mean	29.9	29.8	33.2	31.2	32.2	30.9	34.5	33.4
S.D.	2.43	1.46	2.16	1.28	3.22	2.99	2.01	2.14

**Table 2 Dissolution Rate of Salicylic Acid Tablets**

	USP1	USP2	NIHS1	NIHS2	Equipment Standard 1	Equipment Standard 2	Nodearation 1	Nodearation 2
1	20.2	20.1	21.6	22.5	18.9	21.5	21.1	22.8
2	20.7	20.7	21.3	22.2	21.1	24.1	21.4	22.3
3	19.3	19.8	20.5	23.1	19.5	21.6	20.4	20.4
4	19.2	19.2	20.8	20.4	22.0	21.5	23.3	20.6
5	20.3	21.0	20.8	22.2	19.2	20.9	21.0	21.8
6	19.0	19.3	20.3	22.3	23.4	22.0	19.9	25.0
mean	19.8	20.0	20.9	22.1	20.7	22.0	21.2	22.1
S.D.	0.71	0.72	0.49	0.91	1.80	1.11	1.19	1.71

**Table 3 Dissolution Rate of Alacepril Tablets**

	USP1	USP2	NIHS1	NIHS2	Equipment Standard 1	Equipment Standard 2	Nodearation 1	Nodearation 2
1	72.8	73.0	72.6	73.7	79.2	77.6	80.9	83.6
2	74.3	76.6	74.9	74.1	82.2	80.9	79.1	83.3
3	70.7	71.8	72.2	72.5	80.3	77.4	83.2	83.8
4	70.2	70.5	72.3	72.2	75.3	74.9	85.4	83.7
5	71.8	71.6	71.2	72.2	74.9	75.4	80.6	83.1
6	71.4	70.8	74.2	72.0	76.4	75.2	74.7	81.3
mean	71.9	72.4	72.9	72.8	78.0	76.9	80.7	83.1
S.D.	1.49	2.26	1.39	0.90	2.95	2.27	3.66	0.94

分担研究報告書

溶出試験の変動要因の解明及びその制御に関する研究

分担研究者 鳥海 良寛 社団法人秋田県薬剤師会試験検査センター

研究要旨 溶出試験のデータに与える要因として、試験液の脱気条件が考えられるため、脱気条件を変えて試験液の溶存酸素量を調べるとともに、USP 溶出試験器校正用プレドニゾン錠 10mg、USP 溶出試験器校正用サリチル酸錠 300mg、セタプリル錠 50mg を用いて各試験液脱気条件下における溶出試験データの比較を行った。その結果、1 時間の溶存酸素量の変化が最も安定していたのは、NIHS と 37℃で 24 時間加温した条件だった。

脱気方法の違いが溶出試験データに影響すると考えられるが、単に相関があるわけではなく、製剤ごとに違うことが推測された。

A. 研究目的

溶出試験のデータに与える要因として、試験液の脱気条件が考えられるため、脱気条件を変えて試験液の溶存酸素量を調べるとともに、各脱気条件の試験液を用いて、USP 溶出試験器校正用プレドニゾン錠 10mg、USP 溶出試験器校正用サリチル酸錠 300mg、セタプリル錠 50mg を用いて溶出試験を実施し、溶出試験結果を比較検討する。

B. 研究方法

1. 脱気方法

- ①無脱気：イオン交換水を再蒸留した水を試験液とする。
- ②NIHS 方式：試験液を攪拌しながら、45℃に 2 時間保持する。（ToyamaTS-200 試験液加温タンクを使用）
- ③USP 方式：試験液を攪拌しながら 41℃に

加温（水浴中）、直ちに吸引（140mm-150mmHg）しながら、0.45mm のフィルターを通してろ過する。吸引時間は 5 分、吸引中は 37℃に保温（水浴中）し、試験液を攪拌する。

- ④2 時間超音波洗浄器脱気法：試験液をビーカーに入れ、2 時間超音波洗浄器（BRANSON8210, Yamato）に浸す。
  - ⑤37℃、24 時間加温法：試験液を 37℃で 24 時間維持する。（ToyamaTS-200 試験液加温タンクを使用）
  - ⑥5 分間沸騰後、37℃維持法：試験液を 5 分間沸騰させ、自然冷却して 37℃にして使用する。
2. 試験液の溶出試験器への導入方法
- 各脱気方法を用いた試験液を、各分析法に従った規定量をメスシリンダーで正確に量り、各ベッセルに入れる。