

平成17年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究

重点研究報告書

平成17年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究

重点研究報告書

第1分野

先端的創薬技術の開発に関する研究

第2分野

創薬のための生体機能解析に関する研究

第3分野

医薬品等開発のためのレギュラトリーサイエンスに関する研究

第4分野

創薬に係る臨床研究ならびに稀少疾病治療薬等の開発に関する研究

第5分野

健康寿命延伸・予防診断・治療法の開発に関する研究

第6分野

医療材料および製剤設計技術の開発に関する研究

第7分野

ヒト組織を用いた薬物の有効性、安全性に関する研究

目 次

第1分野

課題番号

KH11001	バイオフィotonクスを利用した細胞組織障害を視る、測る、解析する技術の開発	川西 徹 ……	1
KH11002	成長制御機構の解明と成長障害治療法の開発	緒方 勤 ……	11
KH11003	創薬研究基盤としての新規発生工学技術の開発に関する研究(総合研究報告)	松田潤一郎 ……	13
KH11003	創薬研究基盤としての新規発生工学技術の開発に関する研究(平成17年度報告)	松田潤一郎 ……	17
KH12072	変異を克服した画期的抗ウイルス薬の開発	野口博司 ……	25

第2分野

KH21004	動脈硬化症と血栓症にかかわるスフィンゴシン1-リン酸(S1P)受容体(S1P3)の拮抗薬の開発	望月直樹 ……	31
KH21005	遺伝子改変動物を用いた病態関連因子の解明と創薬への応用に関する研究	田上昭人 ……	35
KH21006	病態時の侵害情報伝達に関与するプリン受容体の機能解明	井上和秀 ……	47
KH21007	蛋白立体構造異常を原因とするコンフォメーション病に対する病態解明と創薬探索システムの確立	桃井 隆 ……	58
KH21008	高密度CGHアレイを用いた新規白血病・リンパ腫治療薬の標的分子の探索	小川誠司 ……	66
KH21009	脂質代謝・機能の解明とその抗微生物薬開発への応用	花田賢太郎 ……	70
KH21010	繊維芽細胞の放出するmacrophage活性化因子とJAG1蛋白の関連と臓器繊維化の機序解明	香坂隆夫 ……	77
KH21011	血管におけるレクチンを介する生体防御システムの解明と創薬への応用	若宮伸隆 ……	86
KH21012	コネキシン遺伝子の癌抑制機能の網羅的解析;癌予防および治療への応用	矢野友啓 ……	96
KH21013	免疫グロブリン大量静注療法的作用機序解明と新しい治療標的分子の探索	阿部 淳 ……	102
KH21014	受精および初期胚発生における糖鎖の役割解析とその応用に関する研究	藤本純一郎 ……	108
KH21015	細胞内エネルギー代謝制御分子の機能発現機構の解明と新規治療薬への応用	江崎 治 ……	113
KH21016	過食の病態関連因子の解明と抗過食薬の創薬探索に関する研究(総合研究報告)	野々垣勝則 ……	117
KH21016	過食の病態関連因子の解明と抗過食薬の創薬探索に関する研究(平成17年度報告)	野々垣勝則 ……	120

KH21017	慢性ストレス負荷によるうつ病様病態の発症分子機構の解明と創薬（総合研究報告）	田平 武 …… 124
KH21017	慢性ストレス負荷によるうつ病様病態の発症分子機構の解明と創薬（平成17年度報告）	田平 武 …… 129
KH21018	アルツハイマー病における新規創薬ターゲット検索のための、APP細胞内ドメインの機能解析	中山 耕造 …… 134
KH21019	創薬への応用を目標としたB細胞の分化・増殖・細胞死の制御機構解明に関する研究	上出 利光 …… 142
KH21021	エンドキシン認識・刺激伝達機構の解明と医療への応用に関する研究	西島 正弘 …… 148
KH21022	ウイルスRNA結合ペプチドを用いたC型肝炎治療薬の開発	鈴木 哲朗 …… 152
KH21023	末梢血幹細胞の分化増殖機構の解明と創薬への応用に関する研究	葛西 正孝 …… 156
KH21101	DNAマイクロアレイによる多発性硬化症の迅速診断法の樹立に関する研究	佐藤 準一 …… 160
KH22073	機能性精神疾患のハイスループットSNPs解析と機能解析による創薬標的分子の解明	功刀 浩 …… 167
第3分野		
KH31024	超難溶性薬物の効率的製剤化に非晶質の特異性を活用する技術とその評価法の確立	吉岡 澄江 …… 175
KH31025	生薬及び漢方処方 of 科学的品質保証に関する研究	合田 幸広 …… 185
KH31026	食中毒細菌の新規迅速検査法の開発とその評価法に関する研究	工藤由起子 …… 194
KH31027	ハイスループット・ヒト型遺伝毒性試験系の構築	能美 健彦 …… 200
KH31028	ヒト肝細胞で置換された肝臓を持つマウスの医薬品開発への利用ー非拘束マウスの胆汁採取分析技術の確立ー	吉里 勝利 …… 210
KH31029	高度分析評価技術を応用した医薬品製剤開発および製造工程管理手法の研究	檜山 行雄 …… 218
KH31030	患者個別化薬物治療のための遺伝子タイピング法及びメタボロミクスの手法の開発に関する研究	斎藤 嘉朗 …… 226
KH31031	細胞医療に用いられる細胞組織利用医薬品の品質・安全性評価技術の開発	山口 照英 …… 235
KH31032	医薬品等の有効性・安全性を保証するための分析・解析技術の評価と標準化に関する研究	林 譲 …… 243
KH31033	医薬品適正使用のためのヒト薬物動態評価法の開発と応用（総合研究報告）	頭金 正博 …… 252
KH31033	医薬品適正使用のためのヒト薬物動態評価法の開発と応用（平成17年度報告）	頭金 正博 …… 257
KH31034	プロテオミクス及び構造生物学的アプローチ等を用いたバイオ医薬品の特性解析・品質評価技術の開発	川崎 ナナ …… 261

KH31035	生物由来製品のウイルス安全性に関する基盤研究	内田恵理子 …… 271
KH31036	臨床薬理学的視点による薬効ゲノム情報活用のための基盤研究	東 純一 …… 281
KH32074	IT技術を用いた低コストかつ高品質な大規模臨床試験実施基盤の構築	永井洋士 …… 288
第4分野		
KH41037	抗フリーラジカル療法を目指した基盤研究と創薬への応用	綱脇祥子 …… 307
KH41038	ボツリヌス神経毒素有効成分を利用したジストニア・痙縮等の治療法の確立と筋萎縮性側索硬化症に対するdrug delivery systemの開発	梶 龍兒 …… 315
KH42075	熱帯病・寄生虫症に対する稀少疾病治療薬の輸入・保管・治療体制の開発研究	名和行文 …… 319
第5分野		
KH51039	臍帯血移植患者へのドナーリンパ球輸注療法（DLI）の実用化	藤原成悦 …… 327
KH51040	アレルゲンによる室内環境汚染の実態を評価する方法、および汚染の制御方法の開発に関する研究（総合研究報告）	安枝 浩 …… 336
KH51040	アレルゲンによる室内環境汚染の実態を評価する方法、および汚染の制御方法の開発に関する研究（平成17年度報告）	安枝 浩 …… 342
KH51041	C型肝炎ウイルスの感染・複製系の確立とその応用による抗ウイルス療法の開発	脇田隆字 …… 349
KH51042	個体特性に着目した食品成分の骨粗鬆症に対する予防効果に関する研究	石見佳子 …… 359
KH51043	食品からの食中毒起因菌の高感度迅速検出法の開発とリスクマネージメントへの応用	山本茂貴 …… 367
KH51044	食品添加物等の新機能性に関する研究	広瀬雅雄 …… 372
KH51045	新規ミスマッチDNA特異的修飾試薬を用いた全ゲノムからの既知および未知の生活習慣病関連遺伝子のSNPs検出システムの開発	池田康行 …… 376
KH51046	気管支喘息、慢性閉塞性肺疾患（COPD）重症化機序の分子細胞システムとしての理解に基づく新たな制御方法の確立に関する研究	松本健治 …… 383
KH51047	呼吸器及び腸管粘膜免疫をターゲットとする新しいワクチンデリバリーの開発（総合研究報告）	竹森利忠 …… 387
KH51047	呼吸器及び腸管粘膜免疫をターゲットとする新しいワクチンデリバリーの開発（平成17年度報告）	竹森利忠 …… 395
KH51048	新しい粘膜アジュバントおよび粘膜ワクチンの開発に関する研究	長谷川秀樹 …… 401
KH51049	バイオテクノロジーによるワクチンの創製と改良技術の開発	松浦善治 …… 406

KH51050	可溶性ウイルス受容体等を利用した抗ウイルス剤の開発に関する研究	田口文広 ……	410
KH51051	ワクチン創生の新テクノロジーと新規ワクチンの開発	小島朝人 ……	418
KH51052	脂質輸送を制御する生活習慣病予防薬開発のための基礎的研究	最上知子 ……	422
KH51054	核酸封入ナノカプセルによるウイルス消毒薬、抗ウイルス薬の創薬に関する研究	武田直和 ……	428
KH51055	siRNA発現ライブラリーによる新興・再興感染症の原因ウイルスの複製に必須な遺伝子の検索および創薬への応用	森川 茂 ……	431
KH51056	プロテインチップ、DNAマイクロアレイ等の新しい技術を用いた診断法の有用性とその評価手法に関する研究（総合研究報告）	鈴木孝昌 ……	437
KH51056	プロテインチップ、DNAマイクロアレイ等の新しい技術を用いた診断法の有用性とその評価手法に関する研究（平成17年度報告）	鈴木孝昌 ……	442
KH51057	血管新生の制御による虚血系疾患治療薬の開発に関する基礎的研究	新見伸吾 ……	452
KH51058	天然抗酸化剤を利用した創薬化学	福原 潔 ……	459
KH51102	内因性幹細胞の動員、生着、心筋分化による重症心不全・再生療法の確立	長谷川浩二 ……	464
KH52076	インフルエンザ治療型単鎖抗体の開発に関する研究（総合研究報告）	浅沼秀樹 ……	466
KH52076	インフルエンザ治療型単鎖抗体の開発に関する研究（平成17年度報告）	浅沼秀樹 ……	471
第6分野			
KH61059	幹細胞等を用いた細胞組織医療機器の開発と評価技術の標準化	土屋利江 ……	479
KH61060	新しい修飾技術を用いた再生医療用生物由来素材の開発	岸田晶夫 ……	500
KH61061	霊長類ES細胞の無フィーダー、無血清培養を用いた新しい未分化維持増殖培養法と血液細胞分化制御系の開発	湯尾 明 ……	511
KH61062	疾患特異的T細胞吸着材の開発（総合研究報告）	澁谷統壽 ……	516
KH61062	疾患特異的T細胞吸着材の開発（平成17年度報告）	澁谷統壽 ……	524
第7分野			
KH71063	臓器移植患者の小腸及び肝組織を用いた遺伝子機能解析に基づくテラーメイド免疫抑制療法の確立に関する研究	乾 賢一 ……	531
KH71064	ヒト細胞を供給源とした再生医療の早期実現化を目指す有効性、安全性の検証システムの確立	梅澤明弘 ……	540
KH71065	創薬、臨床検査開発のためのヒト組織の有用性に関する研究ーヒト組織バンクの効率的運用のためのネットワーク作りー（総合研究報告）	松浦成昭 ……	548

KH71065	創薬、臨床検査開発のためのヒト組織の有用性に関する研究－ヒト組織バンクの効率的運用のためのネットワーク作り－（平成17年度報告）	松浦成昭 …… 554
KH71066	創薬基盤としての公共的ヒト組織バンクを中心とした肝組織・細胞の研究利用システムの構築	絵野沢 伸 …… 559
KH71067	EBMに基づく医薬品の安全性・有効性を確立するための大規模臨床データに関する学術情報の解析、評価に関する研究（総合研究報告）	森川 馨 …… 569
KH71067	EBMに基づく医薬品の安全性・有効性を確立するための大規模臨床データに関する学術情報の解析、評価に関する研究（平成17年度報告）	森川 馨 …… 575
KH71068	ヒト型遺伝毒性試験系の開発とそのバリデーション	本間正充 …… 591
KH71069	高機能保持ヒト肝細胞組込型細胞チップとナノセンサーによる新薬開発における薬物動態・毒性を評価する新規バイオセンサーの開発	永森静志 …… 601
KH71070	ケミカルゲノミクスによる難治固形癌に有効な主要抗癌剤の薬効貢献分子の探索と発見された分子を標的とする次世代抗癌剤の開発	西尾和人 …… 611
KH71071	外科手術摘出ヒト組織を用いたオーダーメイド医療の研究と遺伝多型を考慮したヒト肝細胞の代謝研究への応用に関する研究	大野泰雄 …… 617
KH72077	ヒト胎盤組織を用いた薬物の胎児移行性及び胎児毒性の定量的評価	澤田康文 …… 628
KH72078	ヒト組織提供医療機関としてのバンクシステム効率化と研究資源高度化に関する研究（総合研究報告）	小林真一 …… 634
KH72078	ヒト組織提供医療機関としてのバンクシステム効率化と研究資源高度化に関する研究（平成17年度報告）	小林真一 …… 640

第3分野

医薬品等開発のためのレギュラトリーサイエンス
に関する研究

高度分析評価技術を応用した医薬品製剤開発および製造工程管理手法の研究

所属 国立医薬品食品衛生研究所
研究者 檜山 行雄

研究要旨：医薬品製造における科学的品質保証を目的として、製品設計段階及び実製造プロセスにおける評価に関する課題のスクリーニングを行った。その結果に基づき有用性が高い医薬品設計・製造管理評価手法を選び、検討を行った。

分担研究者

東邦大学 薬学部 寺田勝英
国立医薬品食品衛生研究所 伊豆津 健一
国立医薬品食品衛生研究所 小出 達夫
アステラス製薬（株）技術研究所 上田 聰
エーザイ（株）製剤研究所 岩本 清
参天製薬（株）生産物流本部 森島 健司
塩野義製薬（株）生産技術研究所 中西 敏和
田辺製薬（株）製薬研究所 浮田 辰三
（株）パウレック技術本部 高嶋 武志
ファイザー（株）名古屋工場 播磨 武

A. 研究目的

科学的な検証・管理をもとに優れた品質の医薬品を恒常的に生産出来る製造プロセスを構築することは医薬品の有効性、安全性を確保する上での重要な研究課題である。医薬品製造における科学的品質保証を達成するには、原薬特性の把握、最適な処方、要因分析に基づいた製造プロセス構築、規格設定における妥当性が不可欠である。これらの要点を踏まえた上で、医薬品製剤開発は機能性担保と製造性担保の両輪で動くべきものである。

しかし、あるべき姿と現実にはギャップがある。研究開発の機能性担保においては、“狭い範囲での成功”を選べば、不成功の根本原因を追求しないのが実態である。変更管理においては本来“狭い範囲”であるものを不完全な規格をもとに“狭い範囲”の外へ製造法を変更しようとする動きが少なからずある。これらの問題の原因として、評価技術が不十分であることがあげられる。医薬品規制国際調和会議（ICH）製剤開発ガイドライン作成においては、Design Space を十分確保することが品質保証のレベルアップになり、結果として行政手続きの効率化につながる事が議論された。この国際的な展開においても評価手法の一層の進歩が必要とされる。

この意識のもとに、平成 16 年度に医薬品原薬、固形製剤、半固形製剤、注射剤の製品設計段階及び実製造プロセスにおける評価に関する課題を現在の科学技術レベルを基準にし、スクリーニングを行ない、その結果に基づき現時点で最も有用性が高いと思われる手法を選び、評価を行ってきた。本年度も引き続き以下の項目について検討を行った。

- 1) 製造工程内での in-line 制御
 1. 晶析における結晶転移現象のモニタリング手法に関する研究
 2. 打錠およびカプセル充填の終点確認法の開発
 3. 近赤外分光法における測定要因の評価とインラインモニタリングに向けた研究
 4. 迅速微生物試験法の検討

5. 近赤外分光法を用いた造粒モニタリング手法の検討

2) 製剤設計開発

1. 各種分析法を用いた眼軟膏中の含有水分の解明と保存効力との関係について
 2. 流動層粒子コーティング操作及び薬物レイヤリング操作におけるリアルタイム粒子表面分析による溶出制御性能および薬物含量の予測可能性の検討
 3. 多成分系非晶質医薬品製剤の開発への近赤外(NIR)の活用
 4. 原薬の結晶形態(晶癖)と表面物性に関する研究
- ### 3) 逸脱管理(不具合の原因調査)
1. 打錠障害の光学分析機器を用いたマイクロ評価
 2. 近赤外イメージングシステムを用いた医薬品評価に関する基礎的検討

B. 研究方法

1) 製造工程内での in-line 制御

1. 晶析における結晶転移現象のモニタリング手法に関する研究

晶析における結晶多形の析出及び転移現象には、多様かつ複雑な要因があり、その制御は難しい。in line 測定によって、結晶転移現象がモニタリング可能となれば、製法理解や結晶形の制御、品質保証(結晶形保証)に極めて有効と思われる。そのため、調査対象に晶析中で2水和物から1水和物へ転移する臭化チメピジウムを用い、昨年度の研究にて、晶析スラリー中の結晶転移を良好に観測できたラマン分光光度計でのリアルタイム測定を実施し、転移終点の確認、結晶転移現象のプロセス検討、転移比率や溶液濃度の定量におけるラマン in line 測定技術の有用性を調査した。

2. 打錠およびカプセル充填の終点確認法の開発

打錠およびカプセル充填の終点は初期移管時のバリデーションに基づき錠剤含量均一性のバッチ内経時的変化から品質が保証できる時点で工程を終了するバリデーションで管理を行なっている。そこで、科学的根拠に基づいた終点確認法の技術確立について検討を行った。今回は動的系での主薬含量の定量精度を確認するため、主薬としてイソプロピルアンチピリン、賦形剤として乳糖を使用した2成分系にて実験を行った。混合されたモデル薬物について水平方向に移動する実験系を構築し、粉体の移動がスペクトルに及ぼす影響および粉体移動速度と定量精度の関係を調査した。また、打錠機ホッパー出口部分での垂直方向移動中の粉体の定量可否、その定量精度、主薬濃度の異なる粉体の切り替え検知可否を調査した。

3. 近赤外分光法における測定要因の評価とインラインモニタリングに向けた研究

近赤外分光法による医薬品製造工程のリアルタイムモニタリングを目的として、拡散反射型プローブを用いた混合時及び打錠時における顆粒中の主薬濃度予測に関する基礎研究を行った。モデル化合物として開発品の化合物Aの製錠顆粒を用い、スペクトルに影響を与える測定環境や測定要因について調査した。また、モデル化合物として開発品の化合物Bの製錠顆粒を用い、簡易的な流動モデルを構築し、定量モデルを用いて顆粒中の主薬濃度の予測を行った。

4. 迅速微生物試験法の検討

迅速な微生物試験として、ATP生物発光や蛍光サイトメトリーはバリデートされて、既にFDA、MHRA、EMAから承認されている。本研究では、未承認であり、微生物に対して特異性のある培地を使用して微生物の増殖をモニターする生化学的比色分析法が、迅速な微生物試験法として従来法に比べて同等以上の検出感度と精度を持つか検討した。非無菌の製品、原料、環境のスワブサンプル用いて、生化学的比色分析法と従来法の生菌数試験や特定微生物試験を行った。

5. 近赤外分光法を用いた造粒モニタリング手法の検討

迅速・非破壊測定が可能な近赤外分光法を用いて、攪拌造粒における新たな工程モニタリング手法としての応用について検討した。18水準の異なる造粒条件(ブレード回転数および造粒時間)によって、エテンザミドを主薬とする4成分系モデル顆粒を作製した。各顆粒の近赤外スペクトルを拡散反射法によって測定し、得られた近赤外スペクトルの変化と各種物性値との相関を調べた。PLS回帰分析による寄与率の差から相関性の高さを比較検討し、近赤外スペクトルが反映している造粒工程中の物理化学的变化を解析した。

2) 製剤設計開発

1. 各種分析法を用いた眼軟膏中の含有水分の解明と保存効力との関係について

非水性製剤の保存効力に影響を及ぼす要因として、接種菌の増殖に影響する含有水分に着目し、近赤外法で解明を行った。眼軟膏製剤において使用実績の高い原料（白色ワセリンまたはプラスチックベースを主配合）を用いて眼軟膏基剤を調製し、滅菌を行い、水分を添加した後、日本薬局方に準じて保存効力試験を行った。また、眼軟膏原料の精製ラノリンに水分添加した基剤の近赤外スペクトルを測定し、水分添加量に対する吸光度変動やスペクトルとの相関を検討し、水分情報の得られる波数領域を確認した。さらに、含有水分のうち微生物増殖に影響する自由水の定量可能性を調べるため、水分活性測定装置にて得た水分活性より算出した自由水量と、前年度の検討で推定した自由水情報を多く含む波数領域の近赤外スペクトルとの相関性を検討した。近赤外法により水分定量が可能であった前年度の知見とあわせて、眼軟膏の製剤開発における水分分析法としての有用性を考察した。

2. 流動層粒子コーティング操作及び薬物レイヤリング操作におけるリアルタイム粒子表面分析による溶出制御性能および薬物含量の予測可能性の検討

賦形剤核粒子へのレイヤリング及び徐放性コーティング操作中に、サンプリングプローブ機構を用いた粒子表面の近赤外分析装置による測定を実施し、得られた近赤外分析結果と噴霧量の関係を考察した。流動層によるスプレー操作には層内水分や給気条件の変動によるスプレー効率が存在するが、これら変動条件下で本機構を採用し、得られた近赤外分析結果と実薬物含量との関係について考察した。また徐放性コーティング操作については被膜量及び溶出制御性能のリアルタイムによる測定可能性について検討した。

3. 多成分系非晶質医薬品製剤の開発への近赤外の活用

疎水性薬物の可溶化やバイオ医薬品の有用性・安全性確保に有用とされる非晶質（アモルファス）固体の活用には、適切な物性評価による製剤設計と工程管理が不可欠とされる。本研究では近赤外分光法を用いた非晶質製剤の評価を目的として、主要成分のモデルとなる糖類やポリオール類の非晶質固体についてガラス転移など物性挙動とスペクトルの関係を検討するとともに、凍結乾燥タンパク質の二次構造評価について検討した。

4. 原薬の結晶形態（晶癖）と表面物性に関する研究

晶析モニタリングのための基礎検討のために、適応可能な測定手法として、XRD、粒子形状の直接観察などの適応性について検討した。さらに、製剤の溶出性の頑健性評価のための基礎検討として、溶出メカニズムと物理化学的要因の関係について検討することとした。晶癖の異なる結晶の存在が報告されている医薬品の1つに抗てんかん薬のフェニトインがあり、フェニトインは水に対し難溶性で、溶解速度が吸収に大きく依存することが既に知られている。フェニトインは結晶多形が報告されており、晶析条件の違いで異なる晶癖の結晶が精製される。そこで、晶癖の異なるフェニトイン結晶を調製し、溶解速度と結晶に関する物理化学的特性との関連性についての検討を行い、さらに、溶解速度に関連する重要な物理化学的特性の評価方法について検討した。

3) 逸脱管理（不具合の原因調査）

1. 打錠障害の光学分析機器を用いたマイクロ評価

固形製剤において、製造機器やスケールの変更による滑沢剤の展延や主薬の偏析などの状態変化は、経験則に依存することが多く、分析機器を用いた直接的な評価方法の報告例は少ない。そこで打錠障害（スティッキング）に焦点をあて、スティッキングの発生しやすいアスコルビン酸の錠剤に関して製造条件の変更に伴うスティッキングの発生具合を評価し、さらにNIRイメージング、顕微X線などの分析機器を用いて原料の分散状態をマッピングすることにより、打錠障害を引き起こす要因を解析した。

2. 近赤外イメージングシステムを用いた医薬品評価に関する基礎的検討

医薬品の設計・品質管理手法に近赤外イメージングシステムを応用するための手法を検証するため、近赤外イメージングシステムの性能及びその有用性について検討し、高速攪拌造粒実験を行うことによって医薬品の評価への応用の可能性について検討を行った。エテンザミド（70%）、コーンスターチ（7.9%）、乳糖（18.6%）の3成分に結合剤（メチルセルロース、3.5%）を混合し、高速攪拌造粒により造粒時間の異なる顆粒を作製した。各条件の顆粒について、ふるい法を用いてメディアン径を算出

した。また近赤外イメージング測定用に用いるペレット作製し、近赤外イメージングシステムを用いて測定を行った。得られたデータは Isys データ解析ソフトを用い、多変量解析を行い、イメージ図（化学的分布）を作成した。さらに各 5 分造粒の顆粒について打錠を行い、錠剤を製造し、パドル法にて溶出試験を行い、データの比較検討を行った。

C. 研究結果

1) 製造工程内での in-line 制御

1. 晶析における結晶転移現象のモニタリング手法に関する研究

本研究によって、ラマンの in line 測定は、転移現象を容易にモニタリングでき、転移終点の確認や転移時間の最適化に有効であること、従来の at-line 測定（IR、粉末 X 線など）よりも、簡便かつ直接的にプロセス及び品質（結晶形）を保証できる可能性を見出した。また、PLS 解析を活用することで、in-line で取得したスペクトルデータから溶液濃度と結晶形比率をともに算出することも可能で、従来の at line 測定（HPLC や粉末 X 線、IR など）よりも、結晶形制御に必要な情報を、省リソースでより緻密に取得することができ、プロセス検討を効率化する有用な手法であることも確認した。

2. 打錠およびカプセル充填の終点確認法の開発

水平方向に移動する実験の結果、粉体の移動速度の増加に伴い、使用した測定サンプルの反射率がわずかに増加し、測定誤差が増加する傾向が認められた。この実験にて得られた知見を基に、打錠機ホッパー出口部分を模した実験系において移動中の混合物の主薬含量測定を行った結果、混合物の主薬含量を予測できる可能性があることを見出した。今回得られた結果より、流動性の良い粉体で IPA と乳糖のように主薬と賦形剤のスペクトルのピーク波長に一定の差があること、また主薬濃度が 10% 程度である単純なモデルに関して、一般的な打錠・カプセル充填機（粉体移動速度が 0.5cm/sec 程度）においては実生産に適応できる可能性があることを確認した。

3. 近赤外分光法における測定要因の評価とインラインモニタリングに向けた研究

モデル化合物として開発品の化合物 A の製錠顆粒を用い、スペクトルに影響を与える測定環境や測定要因について調査した結果、スペクトル前処理を実施しても、検体の充填量と容器の受光面のガラス厚については、影響を軽減することができないことを明らかにした。また、これら影響が大きい測定要因を考慮することで、NIR スペクトルから得られる顆粒の主薬含量の予測値について、精度及び真度を改善できた。さらに、モデル化合物として開発品の化合物 B の製錠顆粒を用い、簡易的な流動モデルを構築し、定量モデルを用いて顆粒中の主薬濃度の予測を行った。この結果、動的測定において影響を与えると考えられる測定要因として、NIR 光照射面の検体層の厚み、積算スピード、プローブの接続位置及び方法を抽出した。

4. 迅速微生物試験法の検討

生化学的比色分析法は、微生物の増殖に伴う培地の変化をモニターする方法なので、菌の増殖の開始を従来法より速く検出することが可能である。しかし、生菌数試験や特定微生物試験の結果から、生化学的比色分析法は、従来法のプレートカウント法と同様に増殖が遅い微生物に対して長時間の培養を必要とし、増殖しない VBNC (Viable but not Culturable) 微生物の検出が不可能であった。生化学的比色分析法を医薬品の微生物試験に使用するには更に検討が必要である。

5. 近赤外分光法を用いた造粒モニタリング手法の検討

造粒中に逐次モニタリングできる測定量のうち、総回転数（ブレード回転速度×造粒時間）と近赤外スペクトルとの間に強い相関が見られた。このときの PLS-1 成分は水に起因するピークの変化を捉えており、造粒中には水に関する領域のスペクトルの変化が起きていることがわかった。また、水に起因するスペクトルの変化が起きていたのにも関わらず実際の顆粒の水分値には変化がなかったことから、近赤外スペクトルは造粒中の水の状態の変化を反映していることが示唆された。今回の結果から、今後は特に造粒工程中の顆粒における水の変化に着目して実際の顆粒の物理的な変化を調べていく必要があると考えられる。将来的には水の状態の変化を追跡することで、近赤外分光法による造粒工程の新たなモニタリング手法としての実現が期待できる。

2) 製剤設計開発

1. 各種分析法を用いた眼軟膏中の含有水分の解明と保存効力との関係について

白色ワセリンあるいはプラスチックベース配合眼軟膏基剤に 1.0 % 程度の水分を添加しても、保存効力は日本薬局方の判定基準に適合した。本基剤において保存効力に影響する含有水分情報は特定できなかったが、少なくとも 1.0 % 程度の水分量を管理すれば保存効力に適合できる品質が確保できると考えられた。精製ラノリンの水分含量に依存して強度変動した水の-OH 基の結合音領域の近赤外スペクトルと水分添加量の間には良好な相関が見られ、本波数領域に水分情報が含まれることを確認した。また、水分活性から算出した自由水量と結合音の高波数領域のスペクトルの間に良好な相関が得られ、近赤外法により自由水が定量可能であることが分かった。近赤外法が微生物増殖の指標となる自由水を定量可能であることは、安定な保存効力を具備する製剤の設計や品質管理の際の有効な手法であると考えられる。前年度の知見とあわせて鑑みると、保存効力に限らず眼軟膏の製剤特性に及ぼす水分や含有水分の影響を迅速かつ非破壊に解析し、管理する手法としての近赤外法の有用性が明らかとなった。

2. 流動層粒子コーティング操作及び薬物レイヤリング操作におけるリアルタイム粒子表面分析による溶出制御性能および薬物含量の予測可能性の検討

レイヤリング及びコーティング操作中の近赤外分析結果と噴霧量の間には良好な相関が得られ、工程の進行に伴う薬物及び被膜成分特有の吸収波数のスペクトル変化を確認した。実薬物量との間には更に高い相関をみせ給気条件の変動によるスプレー効率の変化を追跡していることがわかった。徐放性コーティング操作については被膜波数における解析で被膜量との間には良好な相関を確認したが溶出制御性能との間には相関が得られず、熱的要因により被膜状態が変化したことによるものと考えられた。

3. 多成分系非晶質医薬品製剤の開発への近赤外(NIR)の活用

糖類等の非晶質固体は結晶と異なり特異性が低い NIR スペクトルを与えた。OH 基の分子間水素結合は昇温とともに減少して分子内水素結合または遊離型に移行し、この変化は熱分析で測定されるガラス転移温度以上において顕著となることから物性変化と対応することが示された。各種タンパク質の溶液測定により二次構造と相関する近赤外波長域を特定し、非破壊測定での固体中タンパク質の二次構造評価が可能な事を示した。また凍結乾燥によるタンパク質二次構造の変化として α -ヘリックス構造の減少と無秩序部分の増加が示唆された。

4. 原薬の結晶形態(晶癖)と表面物性に関する研究

フェニトイン結晶の(002)面は、他の面と比較すると水に対してぬれ易く、さらに溶出の活性化エネルギー、結晶面の結合エネルギーが低く、溶出しやすいことが明らかとなった。フェニトイン結晶のように晶析条件により結晶形態の異なる医薬品においては、溶出性の高い結晶面の結晶全体に占める割合を知ることで、結晶全体の溶出速度変動因子を制御可能となることが示唆された。本研究成果はフェニトインのみでの結果であり、今後他の医薬品についても同様の検討が必要と思われる。今後、更なるデータの蓄積を行い、溶出メカニズムの解明、確認が進むことにより、医薬品製剤の溶出プロファイルの科学的制御が可能になると思われる。また、本検討結果は、溶出プロファイルの頑健性を評価する場合のモデル系としての利用も考えられ、今後本分析手法が、医薬品製剤開発及び製造工程管理への応用が期待される。

3) 逸脱管理(不具合の原因調査)

1. 打錠障害の光学分析機器を用いたマイクロ評価

近赤外イメージングを用いたアスコルビン酸を主薬とする錠剤のスティッキングについて評価したところ、杵と接触する錠剤表面のアスコルビン酸および滑沢剤(ステアリン酸マグネシウム)の分散状態に違いは認められなかったが、錠剤内部の滑沢剤の分布状態に違いがある可能性が考えられ、スティッキングの原因となっていることが推察された。この結果から近赤外イメージングによる簡便なスティッキング評価方法の可能性が示唆された。

2. 近赤外イメージングシステムを用いた医薬品評価に関する基礎的検討

イメージ図は一定の解析手法を用いれば、ある程度一定のものが得られることが明らかとなった。しかしイメージングを用いた定量的手法は、同じデータからでも解析手法の違いから値は変動し、正確性に保証はできないため、定量に関しては目安と考え、正確な定量は他の手法を用いた方が良いと考えられた。また、モデル化合物を用いた造粒実験について、回転速度が速いほど、また、造粒時間が長いものは成分の偏りが見られ、造粒が進むと主薬とコーンスターチの分布がオーバーラップして

いた。このようにイメージ図を利用することによって造粒状況など品質の状態を確認することができた。

D. 考察

本研究は平成16年度より開始されており、16年度は評価法のスクリーニングを行い、主に近赤外、ラマン分光法等の手法について検討を行ってきた。本年度はさらに各手法につき詳細な検討を行った。本研究は、製剤設計開発、製造工程内 in line 制御、逸脱管理の項目に分類され、研究範囲は多岐にわたってはいるが、設計、開発、製造、そして製品品質管理は基本的には一連の流れであり、近年注目されている ICH Q8 で提唱された"Quality by design"の概念である、製造プロセスを目的の品質の製品が製造されるように設計・コントロールし、「品質を製品中に造り込む」という考え方に基づいて行われている。また同じく ICH Q8 中で提案されている"Design Space"を作り出すには、品質を左右する重要因子を把握できる分析評価技術や各種パラメータを製造中に適切にコントロールできる手法の開発が必要となっており、本研究で取り上げた手法が ICH Q8 の目指す高度な品質管理を可能にする分析技術として考えられる。中でも近赤外やラマン分光技術は迅速で非破壊ということもあり、本研究中においても実用化へある程度の目処がついてきたと考えられる。

本研究については成果を挙げるだけでなく、さらに成果を一般化し普及させることも目標であるため、今年度は12月に研究成果等普及啓発事業として一般への成果発表会を東京で行った。本研究の成果が普及することにより、より信頼度の高い医薬品製剤設計、よりメカニズムを理解した、明確な製造工程管理が可能となり、現在あまり根本的追及をせずに行われている製薬企業の開発過程に、より科学的なアプローチを行う文化が根づくことが期待できる。また ICH で採択された製剤開発ガイドラインへのアプローチにも役立ち、コモンテクニカルドキュメントに基づく新薬申請への貢献としては、化学・製造・品質管理の提出資料が、より品質、機能へ直接関連したデータとなり、審査の効率化が図れるものと考えられる。

E. 結論

1) 製造工程内での in-line 制御

晶析時の結晶転移現象においてラマン分析技術を利用して製造工程管理できることが示唆された。また、近赤外分光法を用いて主成分の定量を行うことにより混合均一性や打錠およびカプセル充填の終点確認法の開発が可能になることが示唆された。また近赤外分光法を用いた造粒モニタリングの可能性も示唆された。律速過程である微生物試験の迅速化の可能性も示唆された。

2) 製剤設計開発

近赤外分光法を用いることにより、眼軟膏、非晶質医薬品、徐放性製剤の設計開発及び工程管理に応用できる可能性が示唆された。また、フェニトインの結晶形態と溶出性について明らかとした。

3) 逸脱管理（不具合の原因調査）

近赤外イメージングシステムやその他の顕微技術を用いることにより、製剤に関する種々の化学的情報を得られることが明らかとなった。

F. 研究発表

論文発表

Ken-ichi Izutsu, Yasuto Fujimaki, Akiko Kuwabara, Yukio Hiyama, Chikako Yomota, Nobuo Aoyagi
Near-infrared analysis of protein secondary structure in aqueous solutions and freeze-dried solids

Journal of Pharmaceutical Sciences, 95: 781-789 (2006)

学会発表

藤巻康人、小出達夫、加納良幸、長門琢也、夏山晋、坂本知昭、檜山行雄

医薬品の溶出特性と近赤外スペクトルとの相関

日本薬学会第126年会 2006年3月（仙台）

正木佑一、吉橋泰生、米持悦生、寺田勝英
晶癖の異なるフェニトインの結晶表面のぬれ性評価
第 22 回製剤と粒子設計シンポジウム 2005 年 10 月 (浜松)

米持悦生、寺田勝英
原薬の結晶形態 (晶癖) と表面物性に関する研究
平成 17 年度創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業 研究成果等普及啓発事業 2005 年 12 月 (東京)

K. Izutsu, Y. Fujimaki, C. Yomota, N. Aoyagi
Near-infrared spectroscopy of proteins in aqueous solutions and freeze-dried solids: A preliminary study.
Colorado Protein Stability Conference (2005.7)

伊豆津健一、藤巻康人、四方田千佳子、青柳伸男
タンパク質医薬品の非破壊評価に向けた水溶液と凍結乾燥固体中の二次構造検討
近赤外研究会 第 21 回近赤外フォーラム 2005 年 11 月 (筑波)

伊豆津健一、四方田千佳子、小出達夫、藤巻康人、坂本知昭、檜山行雄
多成分系非晶質医薬品製剤の開発への NIR の活用
平成 17 年度創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業 研究成果等普及啓発事業 2005 年 12 月 (東京)

伊豆津健一、四方田千佳子、檜山行雄、青柳伸男
凍結乾燥製剤の非破壊評価に向けたアモルファス固体内水素結合の近赤外 (NIR) 測定
日本薬剤学会 2006 年 3 月 (金沢)

K. Izutsu, Y. Fujimaki, A. Kuwabara, Y. Hiyama, C. Yomota, N. Aoyagi
Effect of freeze-drying on secondary structure of proteins studied by near-infrared spectroscopy (NIR)
World Meeting of Pharmaceuticals, Biopharmaceuticals and Pharmaceutical Technology (2006.3)

小出達夫、藤巻康人、坂本知昭、伊豆津健一、檜山行雄
近赤外イメージングシステムを用いた医薬品評価に関する基礎的検討
平成 17 年度創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業研究成果等普及啓発事業 2005 年 12 月 (東京)

小出達夫、藤巻康人、夏山晋、長門琢也、加納良幸、坂本知昭、檜山行雄
近赤外イメージングシステムを用いた医薬品品質評価についての検討
日本薬学会第 126 年会 2006 年 3 月 (仙台)

上田聰、今井啓二、米奥美由紀、古川猛、沼田和弘、直原高広、那須裕士
打錠・カプセル重点の終点確認法の開発に向けて
平成 17 年度創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業研究成果等普及啓発事業 2005 年 12 月 (東京)

諸島健二、横山誠、鈴木淳介、岩本清、金子彰治

打錠障害の光学分析機器を用いたマイクロ評価

平成 17 年度創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業研究成果等普及啓発事業 2005 年 12 月（東京）

塩谷和史、森島健司

各種分析法を用いた眼軟膏中の含有水分の解明と保存効力との関係について

平成 17 年度創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業研究成果等普及啓発事業 2005 年 12 月（東京）

中村晃敏、山口理加、大槻かおり、相田洋平、中西敏和、戸谷貴行

近赤外（NIR）分光法における測定要因の評価とインラインモニタリングに向けた研究

平成 17 年度創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業研究成果等普及啓発事業 2005 年 12 月（東京）

中村晃敏、相田洋平、大槻かおり、山口理加、中西敏和、戸谷貴行

近赤外分光法における測定要因の評価とインラインモニタリングに向けた研究

日本薬学会第 126 年会 2006 年 3 月（仙台）

小林亮、浮田辰三

晶析における結晶転移現象のモニタリング手法に関する研究

平成 17 年度創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業研究成果等普及啓発事業 2005 年 12 月（東京）

長門琢也、加納良幸、徳山大地、夏山晋、高嶋武志、藤巻康人

流動層粒子コーティング操作におけるリアルタイム粒子表面分析による溶出制御性能及び薬物含量の予測可能性の検討

平成 17 年度創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業研究成果等普及啓発事業 2005 年 12 月（東京）

長門琢也、加納良幸、徳山大地、夏山晋、小出達夫、藤巻康人

近赤外分析装置によるコーティング粒子のリアルタイム物性評価

日本薬学会第 126 年会 2006 年 3 月（仙台）

G. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得

特許出願番号 2004-326484

実用新案登録

その他

平成17年度

創薬等ヒューマンサイエンス研究
重点研究報告書

平成18年7月31日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号
共同ビル（小伝馬町駅前）4F
電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

印刷 株式会社 ソーラン社