

Fig. 2. Classification of New Chemical Drugs by Stereochemistry

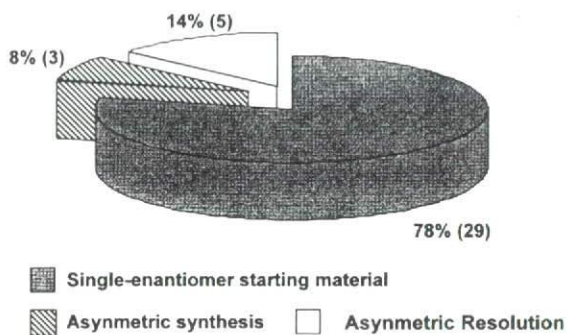


Fig. 3. Manufacturing Routes to Single-enantiomer Drug Substances

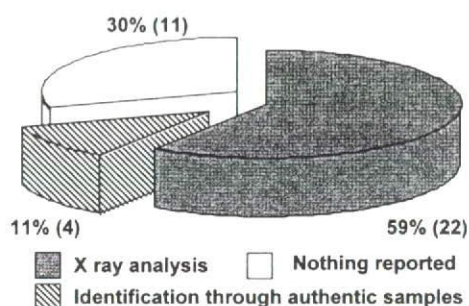


Fig. 4. Stereochemical Characterizations on Chirality of Single-enantiomer Drug Substances

Asymmetric synthesis was used for formation of single-enantiomers for the three single-enantiomers (stripe portion, 8%).

The five substances were isolated by asymmetric resolution (white portion, 14%). The four substances out of the five were purified by crystallization. The other one was purified by chromatographic resolution.

Stereochemical Characterizations on Chirality (Fig. 4): The stereochemical structures of 22

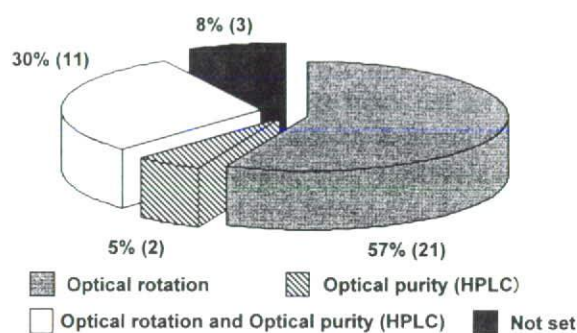


Fig. 5. Specifications for Assuring Chirality of Single-enantiomer Drug Substances

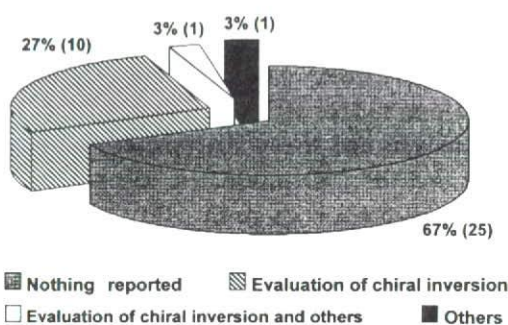


Fig. 6. Pharmacokinetic Studies on Chirality of Single-enantiomer Drug Substances

single-enantiomers were determined by X-ray crystal structure analysis (gray portion, 59%), and 4 single-enantiomers were confirmed by identification through the authentic samples (stripe portion, 11%). No information was reported on characterization of chirality for the remaining 11 single-enantiomers (white portion, 30%).

Specifications for Assuring Chirality (Fig. 5): Optical rotation was adopted as specifications for the 21 single-enantiomers (gray portion, 57%). The chromatographic methods for optical purity determination were chosen for the two enantiomers (strip position, 5%). Both optical rotation and optical purity were adopted as specifications for the 11 enantiomers (white portion, 30%).

No specification for assuring chirality was set for the three enantiomers (black portion, 8%).

Pharmacokinetic Studies on Chirality (Fig. 6): Pharmacokinetic studies were conducted for all of the single-enantiomer drugs, and some sort of pharmacokinetic evaluation relating to chirality was reported for the 12 single-enantiomers. Among them, chiral inversion was evaluated for the 10 single-enantiomers (strip portion, 27%). One out of the 10 single enantiomers indicated chiral inversion on

mouse, although the other 9 single enantiomers did not show any chiral inversion.

One of the other two single enantiomers was proved to generate an enantiomer-specific metabolite (black portion, 3%); and the other one, which did not show any chiral inversions, was additionally investigated on the chiral inversion in metabolite formation (white portion, 3%).

No pharmacokinetic study on chirality was reported in the data summaries of the 25 single-enantiomers (gray portion, 67%).

Racemic Drug Substances

Stereochemical Characterization (Fig. 7): All of the 10 racemic drugs were confirmed to be a racemic substance by some methods. Optical rotation was reported for all of the 10 racemates. Chiral HPLC analysis and X-ray analysis was reported for the nine and the four racemates, respectively. For the four racemate, both chiral HPLC analysis and X-ray analysis were performed.

Pharmacology of Individual Isomers (Fig. 8): Pharmacological activity of each enantiomer was investigated for all of the 10 racemic drugs. Little difference was observed in pharmacological activities of both enantiomers in the five racemates (stripe portion, 50%). For the four racemates, each enantiomer in the racemate indicated different pharmacological potency (gray portion, 40%). For the three of the four racemates, the enantiomers that had greater pharmacological potency were more toxic. The mechanisms of toxicities were same as those of pharmacological activities. In the other racemate, the one enantiomer indicated equivalent toxic potency to the racemate.

Different results were observed between both enantiomers depending on assay systems for the one racemate (white portion, 10%). *In vivo* assay the component isomers in this racemate did not show much difference.

Single-dose Toxicity of Individual Isomers (Fig. 9): Individual single-dose toxicity was reported for 7 drugs out of the 10 racemic drugs. For the three racemates, both enantiomers indicated different single-dose toxicity (gray portion, 30%), and the enantiomer that had higher pharmacological activity was more toxic. Therefore, the development of single-enantiomer drugs was not necessarily beneficial in terms of both safety and efficacy, and the applicants developed the drugs as racemates.

For the four racemates, the individual enantiomers were not different at single-dose toxicity

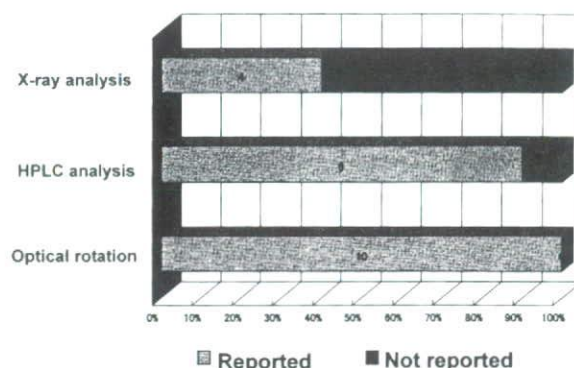


Fig. 7. Stereochemical Characterizations on Chirality of Racemic Drug Substances

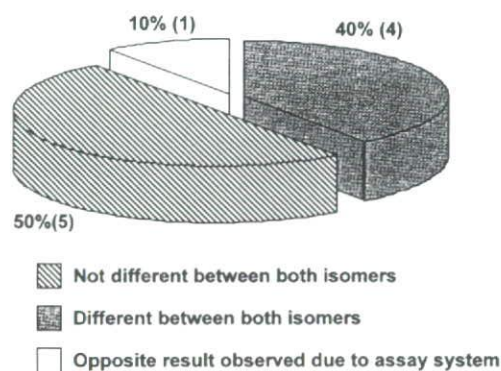


Fig. 8. Pharmacology of Individual Isomers in Racemic Drugs

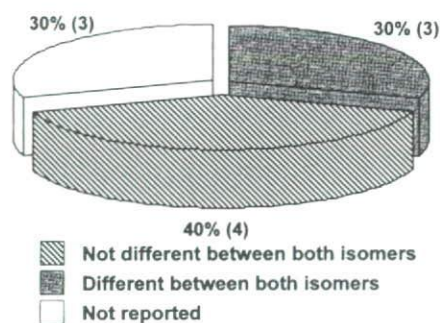


Fig. 9. Single-dose Toxicity of Individual Isomers in Racemic Drugs

(stripe portion, 40%).

Both enantiomers in the three racemates, which had no toxic information of individual isomers, indicated similar pharmacological activities.

Pharmacokinetic Study of Individual Isomers (Fig. 10): Pharmacokinetic evaluations of individual enantiomers were performed for nine racemates using experimental animals and/or human including human tissue-derived materials (Fig. 10). Chiral in-

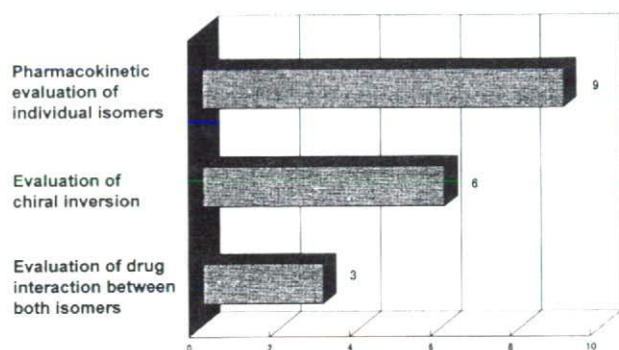


Fig. 10. Classification of Pharmacokinetic Studies on Chirality of Racemic Drugs

version was evaluated for the six racemates, all of which were not observed any chiral inversion. Drug interaction between both enantiomers of the three racemic drugs was investigated. In the other one racemic drug, no pharmacokinetic study relating to chirality was reported.

Pharmacokinetic profiles of enantiomers were investigated for the eight racemic drugs using experimental animals. The four racemic drugs indicated that the individual enantiomers have different profiles. However, there was no difference between both isomers in the rest of four racemates.

Pharmacokinetics was studied using human (healthy volunteers, human tissue-derived materials) for the seven racemates. Pharmacokinetic profiles were different between both enantiomers of the three racemic drugs. The enantiomers of the racemic drug demonstrated different results depending on experimental subjects.

For the four racemates of which each enantiomer indicated different pharmacological potency, both pharmacokinetic profiles of individual enantiomers and chiral inversion were investigated. Drug interaction between both enantiomers was evaluated in the two racemates out of the four.

DISCUSSIONS

Development of single-enantiomer drugs was made possible by the introduction of asymmetric synthesis and chiral separation technologies. In addition, the publication of several guidelines dealing with chiral drugs⁷⁻¹⁰⁾ encouraged the development of single-enantiomer drugs for pharmaceutical manufacturers. The following problems of racemic drugs were parts of the reason for making those guidelines:⁷⁻⁹⁾ One member of an enan-

tiomeric pair might be pharmacologically active and the other inactive; Enantiomers might have different concentration-response relationships for some property; Enantiomers might have completely different activities; Toxicity of a racemic drug might be linked to one member of enantiomeric pairs; Enantiomers might have different pharmacokinetic behavior.

North America^{7,8)} and Europe⁹⁾ have their original guidelines on chirality that describe manufacturing, quality, pharmacology, toxicology, pharmacokinetics and so on. Additionally, quality of chiral drugs was stipulated by a guideline of the International Conference on Harmonization of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceutical Human Use (ICH). The guideline, entitled "Specifications: test procedures and acceptance criteria for new drug substances and new drug products: chemical substances"¹⁰⁾ and encoded as Q6A, recommends applicants, in case of development of single-enantiomer drugs, to consider the other enantiomer as an impurity and to set the identity tests capable of distinguishing both enantiomers and the racemic mixture.

Japan has not issued specific guidelines on the development of chiral drugs. ICH-Q6A was implemented officially in Japan on May 1, 2001 and came into effect on July 1, 2001.¹¹⁾ There was a transitional period from the previous guideline until July 1, 2003. Although the drugs surveyed in this paper are not necessarily objects of ICH-Q6A, applicants could prepare to follow ICH-Q6A since it reached Step 4 in October 1999. Additionally, the Japanese regulatory authorities indicated that where the active ingredient is an optical isomer, a method of discriminating between enantiomers should be investigated and the ratio of enantiomers determined.¹²⁻¹⁵⁾ Except for the quality point of view, 'Guidelines on Non-clinical Pharmacokinetic Studies'¹⁶⁾ says that when the investigational substance is a racemate, sponsors should monitor the enantiomers individually to determine the pharmacokinetic profiles. The developments of chiral drugs in Japan must be affected by U.S.A. and/or EU guidelines because pharmaceutical developments parallel in worldwide.

The above guidelines do not prescribe a selection strategy to develop as a single enantiomer or a racemate. However, applicants would be expected to provide a scientifically based justification when a racemic drug had been developed instead of a single-enantiomer drug.

Single-enantiomer Drug Substances

For the 11 single-enantiomers, the stereochemical characterization was not reported (Fig. 4). It does not necessarily mean that the Japanese authorities did not receive any information, but it means that no stereochemical characterization was described in the data summaries. In Japan, reviewers use data summaries as a primary assessment document and technical reports as an additional tool, because significant issues are described in data summaries in the Japanese review system. On the other hand, reviewers directly assess individual technical reports on chemistry, manufacturing and control (CMC) in U.S.A.

The stereochemical characterization was reported for all the substances which were produced by asymmetric synthesis or asymmetric resolution, and hence we supposed that the stereochemical characterizations of the 11 single-enantiomers were regarded as less significant for the following reason: Those 11 substances were synthesized from single-enantiomeric starting materials containing multi-chiral centers such as sugars and steroids; Synthetic procedures of those substances were regarded as ensuring their stereochemistry.

ICH-Q6A guideline says that the identity tests should be capable of distinguishing both enantiomers and the racemic mixture for a drug substance developed as a single enantiomer. However, the specification for assuring chirality was not adopted for the three single-enantiomer drugs. One of them had one-chiral center, and the others had multi-chiral centers. Although the reason for rejected specifications is not clear from the data summaries, it might result from the fact that the NDA of three drugs were submitted during the transitional period for implementing Q6A, or those three substances might be regarded as retaining their starting material chirality, or the specification for assuring chirality might be considered to be meaningless.

Also, no pharmacokinetic study on chirality was reported in the data summaries of the 25 (67%) single enantiomers (Fig. 6), 19 of which had multi-chiral centers. In contrast, the chiral inversion was reported for the four single enantiomers with multi-chiral centers, however, less or equal two chiral centers were investigated in those enantiomers. For the single enantiomer with multi-chiral centers, their chiral inversion and isomer-specific metabolism tended to be considered to be complicated and unimportant.

Racemic Drug Substances

Based on the guidelines, we reassessed the justifications for developing the 10 racemates rather than a single enantiomer.

The pharmacologic activity and the pharmacokinetic profile of the individual enantiomers should be characterized, because rapid interconversion *in vivo* was not observed for all of the 10 racemic drugs. Although the principal pharmacological activity was characterized for the individual isomers of the 10 racemic drugs, the pharmacokinetic profiles of the individual enantiomers were not reported for the one. It might be one of the reasons for not reporting that this racemic drug has been a common therapeutic agent for long time in worldwide.

According to the guidelines, it is ordinarily sufficient to carry out toxicity studies on the racemate. The toxicity study of each isomer was not reported for the three racemic drugs, because both enantiomers of these three racemates indicated similar pharmacological activities.

Relating to stereochemical characterization, it is recommended to perform chromatographic tests in addition to optical rotatory tests for mixtures of optical isomers. The chiral HPLC analysis was not performed for the one racemic drug. This racemic drug has been a common therapeutic agent for long time in worldwide, and the Japanese authorities did not require additional stereochemical characterization.

In conclusion, the trend in the Japanese pharmaceutical development is increasingly moving toward the development of single isomers rather than racemates. The chiral development approaches approved in Japan were essentially consistent with the approaches recommended by the guidelines. The racemic drugs, which shared only 13% in the new chemical drug substances, had some rationale to be developed as racemates. Decline of racemic drugs development may continue in Japan as well as worldwide, because some studies need to be carried out with not only a racemic mixture but its component enantiomers.

Acknowledgements This work was supported by Health Labour Sciences Research Grants (R.S., S.T. and H.O.) and Individual Research Grants of the Doshisha Women's College of Liberal Arts (R.S.). This paper includes the authors' private statements. No official support or endorsement by the Pharmaceuticals and Medical Devices Agency is intended,

nor should be inferred.

REFERENCES

- 1) The United States Adopted Names (USAN) Council in The American Medical Association (AMA) (2005) *Geometric isomerism and chirality: The USAN perspective*, <http://www.ama-assn.org/ama/pub/category/15698.html>
- 2) Stinson, S. (1998) Counting on chirality. *Chem. Eng. News*, **76**(38), 83–104.
- 3) Rouhi, A. M. (2003) Chiral business. *Chem. Eng. News*, **81**(18), 45–55.
- 4) Ministry of Health, Labour and Welfare (1961) *Enforcement Regulations of the Pharmaceutical Affairs Law*, Article 38, <http://law.e-gov.go.jp/htmldata/S36/S36F03601000001.html>
- 5) Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (April 2001–present) *Information for approved drugs in Japan*, http://www.info.pmda.go.jp/shinyaku/shinyaku_index.html
- 6) Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (September 1999–October 2005) *Information for approved drugs in Japan*, <http://www.jpec.or.jp/contents/c01/link.html>
- 7) Food and Drug Administration (1992) FDA's policy statement for the development of new stereoisomeric drugs. *US Food and Drug Administration regulatory guidance*, <http://www.fda.gov/cder/guidance/stereo.htm>
- 8) Health Canada (2000) Stereochemical issues in chiral drug development. *Health Canada guidance document*, http://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mps/prodpharma/applic-demande/guide-ld/chem/stereo_e.html
- 9) European Medicines Agency (1997) *Investigation of chiral active substances European Union Guidelines*, <http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/qwp/3cc29aen.pdf>
- 10) International Conference on Harmonization of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceutical Human Use (1999) *Specifications: test procedures and acceptance criteria for new drug substances and new drug products: chemical substances*, Q6A, Step 4, ICH, <http://www.ich.org/cache/compo/363-272-1.html#Q6A>
- 11) Ministry of Health, Labour and Welfare (2001) *Setting of Specifications and Test Methods of New Drugs*, Notification No.568 of the Evaluation and Licensing Division, PMSB dated May 1, 2001, http://www.pmda.go.jp/ich/q/q6a.01_5_1.pdf
- 12) Ministry of Health and Welfare (1994) *Guidelines for Establishment of Specifications and Test Methods for New Drugs*, Notification No. 586 of the Pharmaceuticals and Cosmetics Division, PAB dated September 1, 1994.
- 13) Branch, S. K. (2001) International regulation of chiral drugs. In *Chiral Separation Techniques. A Practical Approach*, 2nd Edition (Subramanian, G., Ed.) Wiley-VCH, Weinheim, pp. 319–342.
- 14) Shindo, H. and Caldwell, J. (1995) Development of chiral drugs in Japan: an update on regulatory and industrial opinion. *Chirality*, **7**, 349–352.
- 15) Shindo, H. and Caldwell, J. (1991) Regulatory aspects of the development of chiral drugs in Japan: a status report. *Chirality*, **3**, 91–93.
- 16) Ministry of Health, Labour and Welfare (1998) *Guidelines on Non-clinical Pharmacokinetic Studies*, Notification No.496 of the Evaluation and Licensing Division, PMSB dated June 26, 1998, <http://www.nih.go.jp/mhlw/tuuchi/1998/980626/980626.pdf>

品質に関するトピックの動向

Q8(R1)：製剤開発（補遺）**

奥田 晴 宏*

1. Q8（製剤開発ガイドライン）（Table 1）

製剤開発ガイドラインは、新薬申請時のCTD様式第3部の「製剤開発の経緯」の記載内容に関するハイレベルな指針です。それに加え、科学の観点から工程や製品の理解が進み、そのことを規制当局に説明できた場合、規制の弾力的な取り組みを行うための基盤となる領域を示すことによって、規制の弾力的な運用につなげようといった意図もあります。

この背景には、品質は製品になってから規格によって検証するものではなく、製品設計の段階で製品に組み込まれているべきといった Quality by design (QbD) の考えがあります。

1.1 Q8の構成 (Fig. 1)

Q8は、2005年10月開催のシカゴ会合で中核的な内容についてパート1として合意し、既に通知¹⁾しています。シカゴ会合で積み残しとなった事項が、今回補遺としてまとめようとしている部分、パート2で、特定の剤型に関する注意事項及び品質リスクマネジメントの例を示すことを目的として検討を重ねてきました。パート2（補遺）が完成し、中核的な文書であるQ8に添付されますと、Q8は今までのQ8から revise されたQ8(R)と呼ばれることとなります。

1.2 横浜会合以降の活動 (Table 2)

2006年5月に開催された横浜会合では、Ver. 3.1について検討しました。Ver. 3.1は、ICH Q6Aで取り扱っている各種製剤の製剤開発に関する説明を意図しましたが、散漫な印象を与える等の理由により、経口固形製剤に焦点を絞って、再度パート2 (Addendum) を作成することとなりました。そし

て、2006年10月のシカゴ会合で Ver. 4、シカゴ会合の2か月後の12月に Ver. 5を作成し、2007年2月にそれぞれの極のサポートメンバーに対してコメントを募集しました。

1.3 Addendum Ver. 5 (Table 3)

Addendum Ver. 5は、経口固形製剤に焦点を当てて検討しました。検討内容は、Table 3に示すように、Quality by Designの実例を示すとともに、今まで実施してきた製剤開発の取り組みをベースラインの方法と定義して併せて記載することとしました。

更に、Q9ガイドラインで示したリスクマネジメントツールを適切に運用した事例についても紹介することとしました。具体的な Addendum の構成ですが、序文の後に「製剤開発の一般原則」の項を設け、製剤開発戦略を記載することとしました。そして Table 4の具体例に示したように、四つの角度から実際にベースラインと Quality by Design の取り組みについて、事例と共に記載することを検討しました。この Ver. 5について、前述したように2007年2月にコメントを収集しました。

各極から、二つの視点で評価されました (Table 5)。すなわち、一つは「ベースライン」と取り組みを記載しようとしたため、ある意味教育的なガイドラインとなってしまい、Quality by Designという最先端の科学を取り入れたいとの観点から見ると時代遅れではないかといった批判、もう一つは「ベースライン」を記載することにより、もともとQ8ガイドラインは、製造メーカーの自主的な取り組みを推進することを目的としていたはずであったにも関わ

* 国立医薬品食品衛生研究所有機化学部 東京都世田谷区上用賀 1-18-1 (〒158-8501)

** 当協会主催の第16回ICH即時報告会 (平成19年6月28日：東京) における講演による。

Table 1 Q8（製剤開発）ガイドライン

- 新薬申請時のCTD第3部 3.2.P.2項「製剤開発の経緯」の記載内容に関するハイレベルな指針
- 製剤学と製造科学の観点から理解が進んだことを証明できた場合に、規制の弾力的な取組みを行うための基盤となる領域を示す。規制の弾力性の程度は、提示した関連する科学的知識のレベルによって決まる。
- 品質は、製品になってから検証するものではなく、製品設計によって製品に組み込まれているべきであるとの認識は重要である

Q8:ガイドライン本体と補遺から構成

Q8→Q8(R)

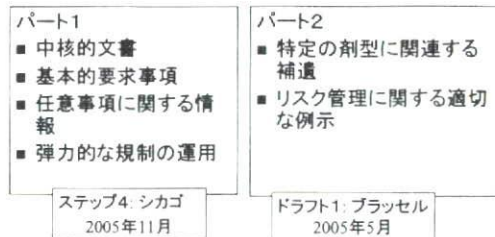


Fig. 1 Q8の構成

Table 2 横浜会合(2006.5)以降の活動

- 2006年5月 横浜: Ver. 3.1の検討;
 - 固形製剤に焦点を絞る
- 2006年10月 シカゴ: Ver.4
- 2006年12月 Ver.5
- 2007年2月 Ver.5に関するコメント収集
- 2007年2月 ICH ブラッセル中間会合（中止）
- 2007年4月 テレカンファレンス
 - Addendum に関して各極の期待の差が確認
- 2007.05 ICH ブラッセル

らず、非常に規範的なガイドラインとの性質を帯びてしまったという二つの批判を主に産業界から受けました。

更に別の視点では、やはり「ベースライン」について、当初の予定どおり明確に記載すべきだとの指摘もありました。

これらの指摘により、ガイドライン作成がなかなか前に進まない状況となり、このままでは有用なガ

Table 3 Addendum Ver. 5

- 経口固形製剤にまず焦点
 - ベースラインの取組みを記載
 - Quality by design の実例を示す。
 - ・ 製品と製造工程の理解を促進
 - ・ 産業界と規制当局との知識の共有を奨励
- Q9 で示されたリスクマネジメントツールを適切に運用した事例に言及

Table 4 Addendum Ver.5 の構成

- 序文 (All)
 - 目的・到達目標; 親ガイドラインとの関係を記述
- 製剤開発戦略 (EFPIA, FDA)
 - 従来型の取組も依然として満足すべきものであることを示す
 - 対比して、いっそう充実した取組とその場合の規制の弾力的な運用の可能性を示す。
- 具体例
 - 処方設計と組成 (EU, PhRMA)
 - 製剤製造工程の開発 (Canada, EFPIA, JPMA)
 - 容器及び施栓系 (JPMA, MHLW)
 - コントロール戦略 (EFPIA, EU, MHLW)

Table 5 Addendum Ver.5 の評価

- 各極のコメント及びテレカンファレンス (2007.4)の議論
 - 今となっては時代遅れのガイドライン
 - 極めて規範的なガイドライン
 - 個別の剤形に関する「ベースライン」とより「改良された製剤開発の取組み(enhanced approach)」を当初の計画に従い明確にすべき
- 有用なガイドラインを提供したとは判断できない

イドラインとは言えないとの結論となりました。

そういった状況で2007年5月のブラッセル会合を迎えました。ラポータの提案 (Table 6) として、まず何が合意できるかを再度見直し、そこに集中してガイドラインを作成すること、ICH Q8 から Q10 の新しい取組みと調和したガイドラインにすべきとの指摘がなされました。

専門家作業グループ (EWG) は、個々の剤形についていかに開発するかについて、また、ベースラ

Table 6 ラポート提案

- 横浜会合(2007.10)を越えることなくステップ 2 文書を作成
- そのためには合意した論点に集中してガイドラインを作成
- ICH Q8, Q9, Q10 の新しい取り組みと調和したガイドラインであるべき
- 特定の剤形に関して「如何」に開発するか、ベースラインに何を期待するかに関してあまりにも時間を費やした。

インについて個々の取り組みを記載することについて多大な努力を傾注したけれども各地域の規制が大きく関与してしまうために合意が難しいといった背景があり、Ver.5 では適切な合意に到達できなかった、と総括されました。

1.4 合意した骨子

パート 2 に関してブラッセル会合で合意した事項を Table 7 に示します。一つ目は、第一章として、Quality by Design (QbD) のハイレベルな原則を明確に記載することとなりました。これは、Q8 の EWG に課せられた運営委員会 (SC) からの宿題でもありました。

そして、第二章で概念、用語及び定義を説明し、最後に第三章で用語集を作成することに絞ってガイ

Table 7 合意した骨子

- 第一章: Quality by Design (QbD) とハイレベルな原則
- 第二章: 概念, 用語, 定義
 - 最重要な用語に関する記述 (簡単な実例を含む)
 - 現行のドラフトに準拠, ただし, それ以外の文書も活用
- 第三章: 用語集

ドラインを作成することとし、ブラッセル会合から検討を開始しました。

1.5 Table of contents of ver. 6 (案)

今回作成するガイドライン、Ver.6 ということになりますが、目次を Table 8 に示します。この中から Introduction, Design space, 及び Control Strategy について、Q8 の補遺として目指している方向を説明します。

ただし、Ver.6 はまだ粗いドラフトができた段階ですので、内容については今後いろいろな点で変更があり得ることはご承知おき下さい。

1.6 目的 (Table 9)

本ガイドラインは最終的に Q8R のアネックスとの位置づけとなります。

既に通知されたコアガイドラインで概略を示されたデザインスペース等の概念及びツールについて、

Table 8 TABLE OF CONTENTS of Ver. 6 (案)

1. Introduction	2.4.4 Utility of Design Space concepts for equipment or site transfers
1.1 Approaches to Pharmaceutical Development	2.4.5 Expansion and Updating of Design Space
2. Examples of approaches for incorporation into Pharmaceutical Development Processes	2.4.6 Relation of Design Space to Process Scale
2.1 Target Product Profile	2.4.7 Design Space and Proven Acceptable Ranges
2.2 Critical Quality Attributes	2.4.8 Design Space and Edge of Failure
2.3 Linking Material Attributes and Process Parameters to CQAs - Risk Assessment	2.5 Control Strategy
2.4 Design space	2.6 Life Cycle Management and Continual Improvement
2.4.1 Selection of variables.	3. GLOSSARY
2.4.2 Defining and describing a design space in a submission	Appendix 1: Contrasts between Two Approaches to Pharmaceutical Development
2.4.3 Unit Operation Design Space(s)	

Table 9 目的

- 本ガイドラインは Q8R のアネックス
- コアガイドラインで概括された重要な概念をより明確にする。
- コアガイドラインで概括された概念、ツールを申請者が実行する方法を示す。
- 品質リスクマネジメントを含め QbD の原則を記述
- 製品のライフサイクルを通じて品質を保証するために「科学と品質リスクマネジメントに基づく規制の方策」を強固なものとする機会を提供する。
- 本アネックスは新たな基準を設定したり規制要件を増大することを意図しない。
- 現在出荷されている製品は安全性と有効性を保証しうる必要な品質を有している。
- 現在実施されている製剤開発は、QbD の要素がある程度含み、Baseline としての（基本的な）取り組みとより包括的な QbD の取り組みの中間に位置していると考えられる。

製薬メーカーが実際に実行する方法を示すことと、品質リスクマネジメントを含めた QbD の原則を記述することを目的とします。

そして本ガイドラインを通じて「科学と品質リスクマネジメントに基づく規制の方策」をより確かなものとする機会を提供することを意図しています。

本アネックスは新たな基準を設定したり、規制要件を増大することを意図しておりません。

また、QbD といった新たな製剤開発の取り組みが打ち出されることにより、現在の製剤がどのように評価されるかが問題となりましたが、現在出荷されている製品についても安全性と有効性をきちんと保証しうる品質であることが確認されています。

現在実施している製剤開発について総括し、現状の開発は Baseline としての取り組みと、より包括的な QbD の取り組みの中間に位置していると考えられると結論しています。

2. QbD の概念 (Table 10)

Q8 ガイドラインは QbD の原則に基づく製剤開発を推進しようとしていますが、そこで、QbD が具体的にどのようなものか再度整理をいたしました。QbD は、製剤開発における組織的な取り組みであり、開発に着手した際に目標とする製剤の設定から

Table 10 QbD の概念

- QbD は製剤開発の組織的な取り組み
 - 開発着手時における目標の設定
 - 十分な科学と品質リスクマネジメントの原則に基づく製剤と工程の理解
 - 製品のライフサイクルを通じて集積した知識とともに更新される。

始まり、更に科学と品質リスクマネジメントの原則に基づいた製剤と工程の理解を重要視したものと位置付けられました。製剤や工程の理解は承認申請時に CTD 様式 P2 セクションで記述されるものですが、ライフサイクルを通じて獲得された知識によって更新できるとされました。

2.1 「包括的な QbD」が保持する要素

具体的に QbD に盛り込まれている要素としては、Table 11 に示すように、まず目標とする製剤プロファイルを特定すること、二つ目は重要品質特性を特定し、製剤機能に影響を与える特性を研究、コントロールすること、三つ目は原薬の品質特性をデザインし、添加剤を適切に選択すること、四つ目は処方と製造プロセスを精密化すること、五つ目はデザ

Table 11 「包括的な QbD」が保持する要素

- 目標とする製剤プロファイルの特定：臨床の有効性と安全性に関連する好ましい製剤機能；投与ルート，剤形，BA，投与量，安定性を考慮する。
- 重要品質特性を特定し、製剤機能に影響を与える特性を研究、コントロール
- 好ましい品質を有する製剤を供給するために、原薬の品質特性をデザインし、添加剤を選択すること
- 処方と製造プロセスを研究し、精密化すること
- デザインスペースを確立し、好ましい品質の製品を確実に供給すること
 - デザインスペースは工程に投入あるいは入力される物質特性及び工程パラメータの多次元的組合せと相互作用によって成り立つ
- 適切な管理戦略を確立することにより、製品品質に対するリスクを軽減すること
 - 管理戦略には物質特性及び工程パラメータにおける変動の原因を把握することが含まれる。
- 将来に亘り製品品質を保証するための継続的改善の実行 (Q10 参照)

インスペースを確立し、その製品を確実に供給する体制を築くこと、六つ目は適切な管理戦略を確立し、製品品質に対するリスクを軽減すること、七つ目はこういった試みが1回だけで終わってしまうのではなく、将来にわたって品質を保証するために継続的な改善を実行する体制を整えることです。

2.2 包括的な QbD と部分的な QbD (Table 12)

ところで、前項で挙げた要素が全て盛り込まれているものを包括的な QbD と考えますと、それらを全て実行しなければ QbD ではないのか、また規制当局の弾力的な規制の運用には結びつかないのかとの疑問に対し、必ずしもそうではないことを EWG で議論しました。

製品開発や工程開発は会社によって、もしくは製品によって様々な方法があるため異なります。したがって、QbD のうち特定の要素のみを実行しても良いと述べています。

ただし、やはり「包括的な QbD」によって徹底的に製品とプロセスについて理解を深めると、それに応じてより弾力的な規制の運用が可能となります。そしてこの「より弾力的な規制の運用」とは、当然のことながら承認申請の際に申請者が提示する QbD が有する科学知識のレベルに基づきます。

3. デザインスペース

Q8 ガイドラインにおいて中心的なコンセプトの一つとしてデザインスペースがあります。デザインスペースについては、様々な機会に何度も説明して

Table 12 包括的な QbD と部分的な QbD

- 製品開発・工程開発の取り組みは会社間であるいは製品によって異なる。申請者は、他の要素は basic な取り組みのままとし、QbD の内特定の要素のみを選択し、実施し、その要素に関するより深い理解をえてもよい。
- しかし、「包括的な QbD」により、製品とプロセスに関してより理解が深まると、より弾力的な規制の運用が可能となる基礎が築かれることに留意すべきである。
- 規制の弾力的な運用の程度は承認申請の際に提示される確かな科学的知識のレベルに依存する。
- 得られた知識のレベル（量でない）が科学に基づく申請とリスクベースな評価の基礎となる。

きましたが、今回、Ver.6 で具体的にどの様な設定が可能かに関して議論しました。

デザインスペースとは、Table 13 に示すように、原材料・プロセスパラメータと重要品質特性の間の関連を記載することです。こういったデザインスペースが有効なのは、変数、パラメータの間に相互作用の可能性がありそうな場合で、相互作用がない場合については、デザインスペースは単一変数の組合せとなってしまいます。そういった場合はむしろデザインスペースではなく、proven acceptable range (PAR)、すなわち許容範囲として単純化されます。なお、PAR が設定された場合、その中での変数の動きは変更とみなさない、すなわち、もし PAR の中で変数を変える場合には、基本的には変更管理の行政的措置がかからないと述べています。

3.1 デザインスペース設定の際に対象とする変数の選択

どのようにしてデザインスペースに組み込む変数を決めるかですが、Table 14 に示すように、様々な知見や実験等に基づいて製剤や工程を理解することにより、相互作用する可能性のある変数や工程パ

Table 13 デザインスペース

- 製造工程に投入・入力される原材料・プロセスパラメータと重要品質特性の間の関連を記載
- 投入材の変数及び/あるいはプロセスパラメータの間の相互作用の可能性が事前評価によって明らかな場合、最も有用
- 相互作用があり得ない場合、デザインスペースは単一変数の実験により、proven acceptable range (PAR; 許容範囲) として単純化される。
 - PAR の中での変数の動きは「変更」とみなさない。

Table 14 デザインスペース設定の際に対象とする変数の選択

- 既知見、リスク評価、実験に基づき工程と製剤に関して理解が深まることにより、投入原材料の変数や工程パラメータが相互作用する可能性を示すことが可能となる。
- 相互作用する可能性があり、製品の品質に影響を与えると特定された変数やパラメータをデザインスペースに算入する。
- デザインスペースに組み込む投入原材料の変数や工程パラメータの種類は申請者に委ねられる。

ラメータを提示することができるとしています。そして相互作用する可能性があり、製品の品質に影響を与えると特定された変数やパラメータであれば、それらをデザインスペースに算入します。

ただし、デザインスペースに組み込むかどうかは申請者の判断ですので、組み込まない場合もあり得ます。組み込まない場合は、そのパラメータは自由度がないこととなります。

3.2 申請の際のデザインスペースの決定方法と記述

デザインスペースを具体的にどのように記述するかといいますと、Table 15に示すように、パラメータが線形である場合は、その線形性を利用して表記することができますし、より複雑な、非線形の場合であれば、数式を利用して定義することもできます。

また、時間依存的な関数として表すこともできますし、パラメータの組み合わせ、例えば多変量モデルの主成分などとして表すこともできます。

更にスケールについても議論し、デザインスペースにスケールファクターを組み込むこともできるとしています。

3.3 デザインスペースの例 (Fig. 2)

相互作用のない変数でしかも線形な場合、三次元であれば左側のように直方体の形になります。

中央の例は、相互作用があって、しかも非線形の場合を想定したもので、このような複雑な形になります。

右の例は、投入するパラメータに応じて特定のレスポンスがある場合で、その投入パラメータとレスポンスとの間でデザインスペースができます。

Table 15 申請の際のデザインスペースの決定方法と記述

- デザインスペースは：
 - 投入するパラメータの線形性を用いて、あるいはより複雑な数学的関連を利用して定義する。
 - 時間依存的な関数あるいはパラメータの組合せ（多変量モデルの主成分など）として定義しうる。
- 複数のスケールで製造する場合も考慮している場合には、デザインスペースにスケールファクターを組み込むことが出来る。

デザインスペースを議論する過程でデザインスペースとスケールの問題が検討されました。最終的にフルスケールで生産される時のパラメータに適用できるデザインスペースの設定が目的ですが、市販のスケールで研究をするのは非常に難しいことがあります。小スケール、あるいはパイロットスケールでもデザインスペースの開発が可能とされました (Table 16)。ただし、その場合は当該のデザインスペースが、フルスケールの製造工程に対して適切であることを別途示さなければならないとしていま

Table 16 デザインスペースと工程のスケールとの関係

- デザインスペースは小スケールあるいはパイロットスケールで開発することが出来る。
- 申請者は小スケールあるいはパイロットスケールで開発したデザインスペースが提案するフルスケールの製造工程に対しても適切であることを示すべきである。

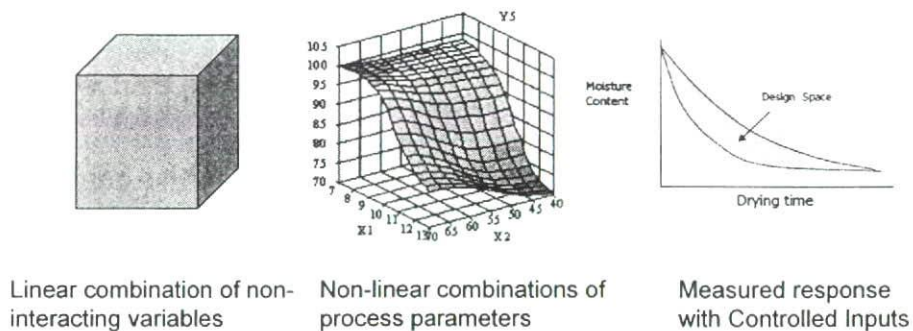


Fig. 2 デザインスペースの例

す。

3.4 デザインスペースと Proven Acceptable Range (PAR)

前述したように、デザインスペースと許容範囲 (PAR) との関係についても議論しました (Table 17)。デザインスペースは、相互作用がある多変数の組み合わせが原則ですので、PAR が単独あるいは単なるその組み合わせではデザインスペースとは見なしません。その理由は、パラメータが相互作用する可能性を考慮する必要があるからです。したがって、注意してデザインスペースを考える必要があります。

例えば三つのパラメータがあり、その三つのパラメータに幅があるからといって直ちに直方体のデザインスペースが設定できるかということ、そうではないということです。相互作用に関する理解なしにはデザインスペースは PAR とは関連づけられません。

しかし、一度相互作用が把握されれば、デザインスペースはその幅の一覧として表現することができます。

3.5 デザインスペースと Edge of Failure (Fig. 3)

デザインスペースの外側について、どこまで研究しなければいけないかについても議論しました。「failure」(仮に「不首尾」と訳しますが)、不首尾に終わる限界を把握すること、もしくは potential failure mode を決定することは有用としています。ただしそれはデザインスペースを設定するための必須条件ではありません。

例えば、成功領域はスペースとして決め、ここから外れた場合、すべて失敗していることをあらかじめ確認しておかなければいけないわけではありませ



Fig. 3 デザインスペースと Edge of Failure

ん。

4. 管理戦略

QbDにおいて重要な要素である管理戦略について、ICH Q10の定義を Table 18に示します。管理戦略とは、最新の製品及びプロセスの理解から導かれるプロセスの稼働性能及び製品品質を保証するために計画された管理一式です。そして管理とは、原薬及び製剤の原材料及び製品に関連するパラメータ等やそれらに関するモニタリングや管理の方法と頻度を含み得ることと定義されています。

Q8では2種類の管理戦略があり得ると記載されています。即ち、最低限必要とされる管理戦略とより包括的な製剤開発に基づく管理戦略です。少なくとも管理戦略は重要パラメータと特性を管理する方法を示す必要があります。

それに加えて、包括的な製剤開発の取り組みを行えば、ある変動要因を特定することにつながる製品・プロセスの理解を得ることができるとしています。すなわち、製剤開発を十分に行い、製品やプロセスの理解を確実にして、変動の要因を特定、特に製品の失敗に結びつくような変動要因を特定することを包括的な製剤開発では指摘しています。

変動要因の特定が可能であれば、ある変動があった場合に下流への影響を理解することができ、より上流のステップに管理を移すことが可能となります。その結果として、例えば最終製品の試験の必要性を減少することができます。

また、工程を理解すれば、プロセスパラメータをコントロールすることが可能になり、その結果、たとえ原材料が変動したとしても、その変動が適切な

Table 17 デザインスペースと Proven Acceptable Range

- デザインスペースは多変量であり、PARに関して、単独あるいはその組合せはデザインスペースとはみなさない。パラメータが相互作用する可能性を考慮する必要がある。
- 相互作用に関する理解無しには PAR はデザインスペースとは関連付けられない。
- 相互作用が把握されれば、デザインスペースが幅の一覧として示される。その時にはその幅は相互作用のない幅のセットとは異なる。

Table 18 管理戦略

- 規格および試験方法に述べられた製品の品質を一貫して保証するために立案される
- ICH Q10 の定義
 - a planned set of controls, derived from current product and process understanding, that assures process performance and product quality.
 - The controls may include parameters and attributes related to DS and DP, materials and components, facility and equipment operating conditions, IPCs, finished product specifications, and the associated methods and frequency of monitoring and control.
- 最低限、管理戦略は処方とプロセスの理解に基づくべきであり、重要パラメータ及び特性の管理する方策が含まれる。
- 包括的な PD の取り組みは変動の原因を特定することにつながる製品・プロセスの理解を与える。
- 製品の失敗に結びつく変動の原因は特定されるべきである。
- 変動の原因とその変動のより下流への影響を理解することにより、管理をより上流のステップに移すことが可能になり、最終製品の試験の必要性を減少することが出来る。
- 工程の理解によりプロセスパラメータをコントロールする余地が生まれ、その結果原材料の変動が適切なプロセスによって補償され、一貫した品質の製品が供給される
- このような工程の理解は従来の戦略に代わる新しいパラダイムを可能にする。そこでは投入される原材料の変動を厳密に制約する必要はない。その代わりに適用可能な製造（投入原料に敏感に応じるステップ）を設計することが可能になり、一貫した品質が保証される。

プロセスによって補償され、一貫した品質の製品が供給できます。

このように工程が管理されれば、従来の戦略に代わる新しいパラダイムが可能となります。そこでは投入される原材料の変動を厳密に制約する必要はなく、その代わりに変動に適用可能な製造工程を設計することが可能となり、その結果として一貫した品質が保証され、原材料の変動を許容するパラダイムが新しい管理戦略では可能になります。

Fig. 4 は新しいパラダイムの概念を説明するための図です。Fig. 4 の右側は最終製品（中間体）の変動を示したものです。最終製品で欲しい特性は直線で示す範囲（Fig. 4、右上の図）です。この直線の範囲を作るためには、今までは実線で示す原材料を

使用しなければいけません。

従来の工程管理は再現性を目標にしています。例えば、実線の特性を有する原材料を用いて規格に適合する最終製品を製造することが目標です（右下図）。例えば、点線の特性を持つ原材料では工程パラメータを一定に保って製造すると点線の製品ができ、不適な製品となってしまいます。したがって、厳密な原材料の管理が必要になるわけです。

一方、プロセスの頑健性を保証すること、どの原材料を用いてもそれに応じてプロセスをコントロールすることにより、規格に適合した最終製品ができる（右上図）というのが新しいパラダイムとなります。

4.1 包括的な管理戦略の要素（Table 19）

包括的な管理戦略の要素として、以下に示す九つの要素が必要です。

一つ目は製造性及び品質特性に与える影響を理解し、原材料の重要な物質特性に応じて添加物の規格を立てることです。二つ目は従来と同様に製剤の規格及び試験方法を適切に設定することです。三つ目は実施した品質リスクマネジメントと使用したツールの概要を示すことです。四つ目は前述したように、より下流の工程あるいは最終製品の品質に影響を与える単位工程を正確に管理することです。五つ目は原材料、プロセスパラメータ及び重要品質特性の関

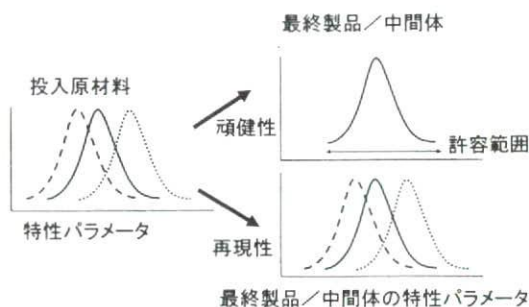


Fig. 4 工程の頑健性と再現性

Table 19 包括的な管理戦略の要素

- 原材料の重要な物質特性による、製造性および品質特性に与える影響の理解に基づく添加物の規格
 - 適宜局方の規格に加えて属性を規格として含む
- 製剤の規格及び試験方法
- 実施した品質リスクマネジメントと使用したツールの概要
- より下流の工程、最終製品の品質に影響を与える単位工程の管理
 - 例：崩壊に及ぼす乾燥工程；溶出に及ぼす顆粒の粒子径分布の影響
- 原材料，プロセスパラメータおよび重要品質特性の連関
- デザインスペース
- 最終製品の品質試験の代わりに工程管理試験あるいはリアルタイムリリースが提案された場合，規格が遵守されていることを予測しうる管理戦略の能力
- 多変量予測モデルの証明のためのモニタリングプログラム
- 有効期間にわたる最終製品の安定性保証に係わる提案された管理戦略の影響を考察

連事項を整えることです。六つ目はデザインスペースを設定することです。七つ目はリアルタイムリリース等が提案された場合、規格が遵守されていることを予測し得る管理戦略であることです。八つ目は多変量予測モデルを用いた場合、その証明のためのモニタリングプログラムを含むことです。九つ目は、

管理戦略が製品の有効期間にわたる安定性に及ぼす影響を考察しておくことです。

5. ブラッセル会合

Table 20 に示す内容を含むガイドラインについて、ブラッセル会合で検討を行い、現在も検討を進めています。既にここに到るまでにかなりの時間を要しているため、次回の横浜会合でステップ2に持ち込みたいと考えています。

6. Q-Strategy Meeting

6.1 経緯

Q-Strategy については、Table 21 に示すように2006年10月のシカゴ会合でのSCの結論として、検討を継続して結論を出すこと、そしてChemicalとBiotechの専門家で原薬に関する協議を続けることが要請されました。

そういったSCの要請を踏まえて、テレカンファレンスを実施し、ブラッセルの会合に臨みました。

6.2 ブラッセル Q-Strategy Meeting

(Table 22)

ブラッセル会合での最終的な決定事項として、一つは非公式なIWGを立ち上げ、Table 23 に示す事項を検討することとなりました。その際FDAから一番重要な事項として、Q8、Q9及びQ10のImplementationを実施したいとの主張がありましたので、それも含め、いくつかの事項の必要性を検討することを大きな目的としました。そのために各バ

Table 20 Timetable and Plan

Action Required	Date Due
Rapporteur to edit complete text and issue draft document Version 6 for circulation to all parties	1 Jun 07
Comments to Rapporteur, cc EWG. These should be key strategic issues and less attention to editorial issues	15 Jul 07
Consolidated comments and marked-up document (pre-Version 7) to EWG	1 Aug 07
Teleconference to agree which changes to accept at this stage	Late August
Version 7.1 released to EWG: Note that this would be intended to form the basis of the Step 2 document	Mid Sept 07
Available comments to be circulated to Rapporteur and EWG prior to Yokohama EWG	Mid Oct 07
Yokohama EWG to agree Version 8. Discussion on acceptability of document for Step 2	Oct/Nov 07

Table 21 Q-Strategy Meeting

- 2006年10月：シカゴ（SCの結論）
 - Q-strategyに関する検討を今後も継続し、ワークプランと共に結論を示す。
 - ChemicalとBiotechの専門家が原薬に関する協議を継続する。
- 2007年2月：ラポータによるテレカンの議題提案
 - 原薬に関するガイドラインをChemicalとBiotechの専門家で検討：(2GL; 1コア G+2 アネックス; 1GL)
 - QbDの観点から修正を要するGL; QOSの変更
 - その他のトピック
- 2007年4月：テレカンにおけるFDA提案
 - Q8, Q9のimplementation状況説明; その課題と解決策
 - 将来の品質トピックの提案と優先順位 (tentative)

Table 22 ブラッセル Q-Strategy Meeting

Agenda

- ICH-Q Visionの確認
- 取り組むべき今後の課題 (implementationの事項を含む)
- Q-Strategyの中での上記の位置づけ
- 優先順位
- 作業計画
- その他

一ターから代表者を1人出し、横浜会合まで連絡を取り合うこととしました。

Q8ガイドラインのコンセプトを原薬ガイドラインに適用するため、関係のグループとの間で何回か議論を重ねています。

Table 24に示すように、FDA/PhRMAがホストとなり、横浜会合に先立ってICH会合を開催し、化成品とバイオテクノロジー医薬品の原薬間の相違に関して検討することとなりました。

その会合では、Q8, Q9及びQ10の主要な要素が、原薬開発・製造にも適用できるかどうかの可能性を評価することが決まりました。

以上を踏まえ、次回の横浜会合に臨む予定です。

Table 23 Implementation of Q8, Q9, and Q10

- 非公式なIWGを立ち上げ、以下の必要性を評価
- 国際的に一貫したimplementationと最適な措置を共有することを保証するためのIWGの設立
 - 地域間の不調和を回避
 - 地域的な事項を特定し、横浜会合の議題を準備するための事前作業
 - implementationに関する予想されるトピックを特定
 - Implementationに向けて協調した取り組みを推進するための作業プロセスの作成
 - 各ICHパーティーは代表1人を指名

Table 24 原薬ガイドラインに関する合意

FDA/PhRMAがホストになり、横浜会合に先立ちICH会合を開催

- 化成品とバイオテク原薬間の相違に関して検討
- Q8, Q9, Q10の主要な要素（デザインスペース, QbD, 品質リスクの原則）と原薬開発・製造に対するその適用可能性を評価する。
- SCに技術的評価結果を提出

7. 質疑応答

質問1：Q8(R)の経緯について実際の適用等解説していただきましたが、日本での実際の現場でのアプリケーションについてはどうなのでしょう。

回答：実は、筆者も厚生科学研究として様々な企業の方々と協力して、どのようなかたちでアプリケーションできるかについて検討しています。実験レベルではいくつか挑戦的な試みがなされていますが、国内メーカーで実際に自主生産レベルで検討し、承認申請の段階に行っているかについては、筆者の知る限りでは聞いていません。したがって、国内では、そういう意味で実験段階に留まっています。

しかしながら海外ではパイロット段階ではありますが、FDAがパイロットプログラムを組んだり、実際の承認申請に結びつくような製剤研究開発を募集し、すぐに承認等々に行けるかといった活動が行われています。

文 献

- 1) 厚生労働省医薬食品局審査管理課長：製剤開発に関するガイドライン，薬食審査発第 0901001 号，平成 18 年 9 月 1 日，医薬品研究，38(2)，87 (2007)。

ヘパリン純度試験に関する研究 (第1報)

¹H-NMRによるヘパリンナトリウム純度試験に関する研究

橋井 則貴*¹, 川崎 ナナ*¹, 高倉 大輔*¹, 伊藤さつき*¹, 川原 信夫*²,
正田 卓司*³, 杉本 直樹*⁴, 齋島 由二*⁵, 品川 麻衣*⁶, 榛葉 信久*⁶,
宮田 一義*⁷, 塚本 秀樹*⁸, 千秋 和久*⁸, 長谷川泰介*⁹, 河合 健蔵*¹⁰,
余田 光*¹⁰, 木下 充弘*¹¹, 掛樋 一晃*¹¹, 合田 幸広*², 奥田 晴宏*³,
棚元 憲一*⁴, 山口 照英*¹

(受付：平成20年8月14日，受理：平成20年9月22日)

Studies on the Heparin Purity Test (Part 1)

Study on the Heparin Sodium Purity Test by ¹H-NMR

Noritaka HASHII*¹, Nana KAWASAKI*¹, Daisuke TAKAKURA*¹, Satsuki ITOH*¹,
Nobuo KAWAHARA*², Takuji SHODA*³, Naoki SUGIMOTO*⁴, Yuji HAISHIMA*⁵,
Mai SHINAGAWA*⁶, Nobuhisa SHIMBA*⁶, Kazuyoshi MIYATA*⁷,
Hideki TSUKAMOTO*⁸, Kazuhisa SENSU*⁸, Taisuke HASEGAWA*⁹, Kenzo KAWAI*¹⁰,
Hikaru YODEN*¹⁰, Mitsuhiro KINOSHITA*¹¹, Kazuaki KAKEHI*¹¹, Yukihiro GODA*²,
Haruhiro OKUDA*³, Kenichi TANAMOTO*⁴ and Teruhide YAMAGUCHI*¹

緒 言

ヘパリンナトリウムは、健康な食肉獣、主にブタの腸から得られる硫酸化グリコサミノグリカンのナトリウム塩で、ウロン酸 (L-イズロン酸又はD-グルクロン酸) 及びグルコサミン (GlcN) の2糖繰り返し構造に平均2~2.5個の硫酸エステル基が結合した構造からなる (Fig. 1A)。ヘパリンナトリウムは、血液透析その他の体外循環装置使用時の抗凝固剤として世界中で用いられており、日本薬局方をはじめ、米国薬局方や欧州薬局方に収載されている。また、ダルテパリンナトリウム、バルナパリンナトリウム、レビパリンナトリウム、エノキサパリンナトリウムなどの低分子量ヘパリンの原料としても使用されている。

2007年11月以降米国及びドイツにおいて、ヘパリンナトリウムの静脈急速大量投与による血管性浮腫、血圧低下、頻脈、蕁麻疹、及び悪心等を伴う急

性炎症反応の事例が頻発し、2008年4月までに81名の患者の死亡が報告された。米国食品医薬品局 (FDA) は2008年3月に急性炎症反応の原因物質として、ヘパリンナトリウムに混入していた過硫酸化コンドロイチン硫酸 (over-sulfated chondroitin sulfate; OSCS) を特定した¹⁾。天然に存在するコンドロイチン硫酸エステルは、グルクロン酸とN-アセチルガラクトサミン (GalNAc) の2糖単位に硫酸エステル基が1~3個結合した多糖類であるが²⁾、混入していたOSCSは、4つの水酸基がすべて硫酸エステル化された非天然型のコンドロイチン硫酸エステルであった (Fig. 1B)³⁻⁵⁾。その後、有害事象を引き起こしたヘパリンナトリウムには、OSCS以外に、デルマタン硫酸 (DS; 別名、コンドロイチン硫酸エステルB) (Fig. 1C)、たん白質及び低分子量物質等も、従来の製品より多く含まれていることが明かにされた。

FDAは原因物質としてOSCSを特定したことを

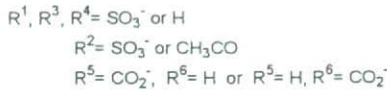
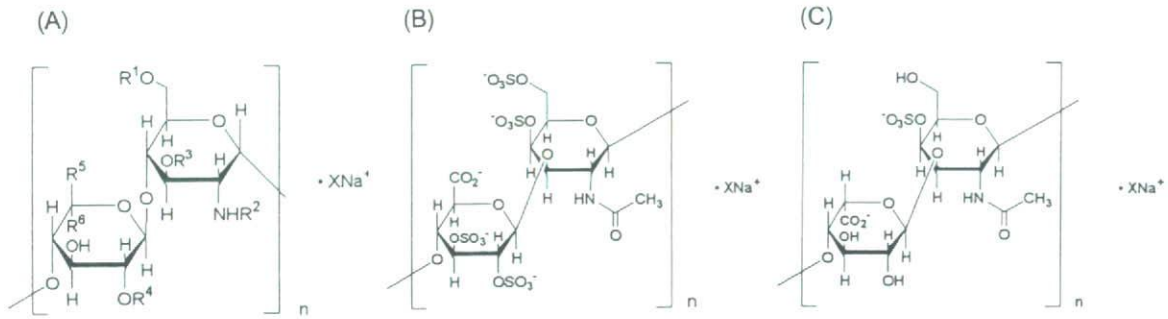


Fig. 1 (A) ヘパリンナトリウム, (B) OSCS 及び (C) DS

公表すると前後して¹⁾, ¹H-核磁気共鳴スペクトル (NMR) とキャピラリー電気泳動法を用いた不純

物検出法をウェブサイトに公開した¹⁾, ¹H-NMR は、ヘパリンの *N*-アセチルグルコサミン (Glc-

- *1 国立医薬品食品衛生研究所生物薬品部 東京都世田谷区上用賀 1-18-1 (〒158-8501)
Division of Biological Chemistry and Biologicals, National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan
 - *2 国立医薬品食品衛生研究所生薬部 同上
Division of Pharmacognosy, Photochemistry and Narcotics
 - *3 国立医薬品食品衛生研究所有機化学部 同上
Division of Organic Chemistry
 - *4 国立医薬品食品衛生研究所食品添加物部 同上
Division of Food Additives
 - *5 国立医薬品食品衛生研究所療品部 同上
Division of Medical Devices
 - *6 味の素(株)ライフサイエンス研究所 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1-1 (〒210-8681)
Institute of Life Sciences, Ajinomoto Co., 1-1 Suzuki-cho, Kawasaki-ku, Kawasaki, Kanagawa 210-8681, Japan
 - *7 (株)大塚製薬工場 徳島県鳴門市撫養町立岩字芥原 115 (〒772-8601)
Otsuka Pharmaceutical Factory, Inc., 115 Kuguhara, Tateiwa, Muya-cho, Naruto, Tokushima 772-8601, Japan
 - *8 テルモ(株)評価センター 神奈川県足柄上郡中井町井ノ口 1500 (〒259-0151)
Evaluation Center, Terumo Co., 1500, Inokuchi, Nakai-machi, Ashigarakami-gun, Kanagawa, 259-0151, Japan
 - *9 日本臓器製薬(株)生物活性科学研究所 兵庫県加東市木梨川北山 442-1 (〒673-1461)
Institute of Bio-Active Science, Nippon Zoki Pharmaceutical Co., 442-1 Kawakitayama, Kinashi, Kato, Hyogo 673-1461, Japan
 - *10 扶桑薬品工業(株)研究開発センター 大阪市城東区森之宮 2-3-30 (〒536-8523)
Research and Development Center, Fuso Pharmaceutical Industries, 2-3-30 Morinomiya, Joto-ku, Osaka 536-8523, Japan
 - *11 近畿大学薬学部 東大阪市小若江 3-4-1 (〒577-8502)
School of Pharmacy, Kinki University, 3-4-1 Kowakae, Higashi-Osaka, Osaka 577-8502, Japan
- Corresponding author: Nana Kawasaki, Division of Biological Chemistry and Biologicals, National Institute of Health Sciences. 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan
E-mail: nana@nihs.go.jp

NAc)の*N*-アセチル基とOSCSのGalNAcの*N*-アセチル基の化学シフトの違いを利用した方法であり、キャピラリー電気泳動法は、ヘパリンとOSCSが硫酸基結合数の違いで分離されることを利用した方法である。各国は、FDAが公開した分析法を用いてヘパリンナトリウムの分析を行うとともに、OSCSの存在が確認されたヘパリンナトリウムの回収を行う等の対応をとった。一方で、世界的にヘパリン関連医薬品の供給不足への懸念が広がり、ヘパリンナトリウム製剤の安定供給のために、OSCSやDS分析法の整備が緊急課題となった。日本薬局方、米国薬局方及び欧州薬局方も、迅速対応として、ヘパリンナトリウム各条にOSCS及びDSの試験を追加することを検討するに至った^{6,7)}。

本研究は、我が国におけるヘパリンナトリウムの品質・安全性確保を目的として、FDAの方法を参考に、¹H-NMRによるOSCS及びDS分析法を確立するとともに、日本薬局方各条ヘパリンナトリウム純度試験としての適用可能性を評価したものである。

実験方法

1. 試料

OSCSは日本バルク薬品㈱から供与されたヘパリンナトリウムより弱陰イオン交換HPLCで精製したものをを用いた⁸⁾。DSは生化学工業㈱から購入した。日局ヘパリンナトリウム標準品は(財)日本公定書協会より供与された。国立衛研は、ニプロファーマ㈱より供与されたヘパリンナトリウムを用いた。共同検定に参加した製薬企業5社は、各社のヘパリンナトリウムを使用した。3-トリメチルシリルプロピオン酸ナトリウム-*d*₄ (TSP, 重水素化率98%)は、アルドリッチ社から購入した。重水は重水素化率99.9~99.96%のものを使用した。

2. 分析条件

ヘパリンナトリウム20mgを最終濃度0.01% (w/v) TSPを含む重水溶液 (TSP重水溶液) 0.60 mLに溶かして試料溶液とした。この液につきTSPを内部基準物質として日本薬局方一般試験法NMR <2.21> に従い¹H-NMRを測定した。温度は25℃に設定し、スピニングはオフとした。データポイント数は32,768とし、スペクトル範囲はDHOのシグナルを中心に±6.0 ppmとした。パル

ス角は90°、繰り返しパルス待ち時間は20秒、ダミーキャンは4回とした。ヘパリンの*N*-アセチル基のプロトンのシグナルのS/N比200以上が得られるまで積算した。ウインドウ関数は指数関数 (Line broadening factor=0.2 Hz) を用いた。

3. 分析能パラメータの評価及びデカップリングによる¹³Cサテライトピーク消失の確認

分析能パラメータの評価は、国立衛研においてJEOL JNM-ECA 500 (500 MHz) を用いて実施した。ピーク面積は、ピーク形状を補正処理した後、TSPのピークのシグナル面積強度を1.000としたときの相対面積強度として算出した。デカップリングによる¹³Cサテライトピーク消失の確認は、JEOL JNM-ECA 600 (600 MHz) を用いて行った。

3.1 OSCS

ヘパリンナトリウムをTSP重水溶液に溶解してヘパリンナトリウムTSP重水溶液とした (20 mg/0.6 mL)。この液に最終濃度0.17~10.0% (w/w) になるようにOSCSを添加した後、500 MHzの装置を用いて¹H-NMRを測定した。TSPのシグナル面積強度に対するOSCSの*N*-アセチル基に由来するシグナルの相対面積強度を求めた。

3.2 DS

ヘパリンナトリウムTSP重水溶液 (20 mg/0.6 mL) に最終濃度0.35~18.7% (w/w) となるようDSを添加した後、500 MHzの装置を用いて¹H-NMRを測定した。TSPのシグナル面積強度に対するDSの*N*-アセチル基に由来するシグナルの相対面積強度を求めた。

4. 共同検定

国立衛研生物薬品部、同有機化学部、味の素㈱、㈱大塚製薬工場、テルモ㈱、日本臓器製薬㈱、及び扶桑薬品工業㈱が参加した。ここでは便宜上試験室A~Gと記す (順不同)。試験室AはBruker AVANCE 600 (600 MHz)、試験室BはBruker ARX-500 (500 MHz)、試験室CはVarian INOVA 500 (500 MHz)、試験室DはJEOL JNM-ECA 500 (500 MHz)、試験室EはJEOL JNM-AL 400 (400 MHz)、試験室FはVarian MERCURY VX 400 (400 MHz)、試験室GはVarian Unity-Plus 400 (400 MHz) を使用した。

4.1 OSCS

OSCSをTSP重水試液に溶解し、OSCS溶液(4.0 mg/mL)を調製した。この液とヘパリンナトリウムTSP重水溶液を用いて、最終濃度0.5、1.0及び1.5% (w/w)のOSCSを含むヘパリンナトリウムTSP重水溶液(20 mg/0.6 mL)を調製し、¹H-NMRを測定した。3.1と同様にしてTSPのシグナル面積強度に対するOSCSのN-アセチル基に由来するシグナルの面積強度比を求めた。

4.2 DS

DSをTSP重水試液に溶解し、DS溶液(4.0 mg/mL)を調製した。この液とヘパリンナトリウムTSP重水溶液を用いて、最終濃度1.0、1.5及び2.0% (w/w)のDSを含むヘパリンナトリウム溶液(20 mg/0.6 mL)を調製した。3.2と同様にしてTSPのシグナル面積強度に対するDSのN-アセチル基に由来するシグナルの相対面積強度を求めた。

結 果

1. OSCSの分析

1.1 特異性

ヘパリンナトリウムをTSP重水溶液に溶かして20 mg/0.6 mLの試料溶液(ヘパリンナトリウムTSP重水溶液)を調製し、プロトン共鳴周波数500 MHzのNMR装置を用いて¹H-NMRを測定したところ、ヘパリンナトリウムのN-アセチル基のプロトンは2.05 ppmに観測された。次に、ヘパリンナトリウムTSP重水溶液に最終濃度10.0% (w/w)になるようにOSCSを添加して¹H-NMRを測定したところ、OSCSに由来するN-アセチル基のシグナルは、2.15 ppmに観測された(Fig. 2)。ヘパリンとOSCSのN-アセチル基のシグナルはよく分離していることから、¹H-NMRは、OSCSに対する特異性が高いことが確認された。また、ヘパリンナトリウムのN-アセチル基の¹³Cサテライトピークのうち低磁場側のピークが2.175 ppmに観測されたが、OSCSのN-アセチル基のプロトンシグナルの化学シフトは2.152 ppmであり、識別できることが確認された。

プロトン共鳴周波数600 MHz装置を用いたとき、ヘパリンナトリウムのN-アセチル基の¹³Cサテライトピークが1.937及び2.151 ppmに観測された(Fig. 3A)。ヘパリンナトリウムにOSCSを添加し

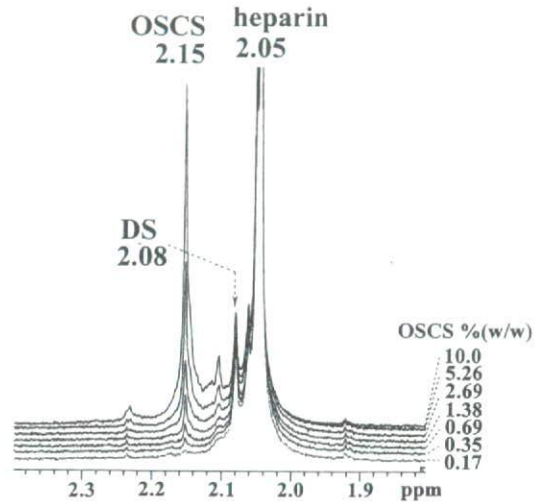


Fig. 2 ヘパリンナトリウム及びOSCSのN-アセチル基のプロトンの化学シフト

最終濃度0.17~10.0% (w/w)のOSCSをヘパリンナトリウムに添加した。プロトン共鳴周波数: 500 MHz.

て¹H-NMRを測定すると、低磁場側の¹³CサテライトピークがOSCSのN-アセチル基のプロトンシグナルと重なることが明らかとなった(Fig. 3B)。しかし、デカップリングにより¹³Cサテライトピークを消失させることによって、OSCSのみを検出できることが確認された(Fig. 3C)。

1.2 検出限界

OSCSを最終濃度0.17~10.0% (w/w)になるようにヘパリンナトリウムTSP重水溶液に添加した溶液につき¹H-NMRを測定し、本分析法の検出限界を確認した。Fig. 2に示すように、OSCS濃度が0.35%のときにはピークを確認することができたが、OSCS濃度が0.17%のときはピークとして判断することが困難であった。

1.3 直線性、範囲、再現性

OSCSを最終濃度0.17~10.0% (w/w)になるように添加したヘパリンナトリウムTSP重水溶液につき、¹H-NMRを測定した。得られたOSCSのN-アセチル基に由来するシグナル面積強度をTSPに対する面積強度比で表したとき、0.4~10.0%の範囲で直線性が確認され、その相関係数(R²)は0.9991であった(Fig. 4)。0.4%のOSCSを添加したときの併行精度は1.6%であった。また、0.4%の