

グラフとして1つの各条にまとめたものである。タイプによって添加剤の使用目的が異なり、結合剤、増粘剤、フィルム剤として使用するヒプロメロースのFRCとして「見かけ粘度」、「置換度」が記されており、徐放性製剤のマトリックスとして使われるヒプロメロースのFRCとして、「見かけ粘度」、「置換度」に加え、「分子量分布」、「粒子径分布」、「粉体の流動性」が記されている。EPのgeneral chapterに試験法が既にあるものは項目だけが記され、「見かけ粘度」のようにgeneral chapterに収載されていない場合は各条のFRCセクションに試験法が記載されることになる。このセクションはnon-mandatoryであり、試験を実施すること必須ではないと記されているが、これらの特性を制御することにより、製造工程における製品のばらつきを減らし、製剤performanceを改善できるとしている。

各条へのFRCの収載の他に、EPはFRCに関する情報提供のためのgeneral chapterを作成している。その最新のバージョンは2007年3月にEP委員会によって採択された。このchapterの意図するところは、局方のユーザーにFRCの概念について知らせ、特定の各条のFRC sectionの適切な利用法を説明することである。また、判定基準にも用いないとされている。添加剤としてこの新しいセクションは、EP利用者である製剤メーカーおよび行政機関のための情報として与えられるということが明記されている。それらが多くの場合に添加剤の性能として重要であるために、non-mandatoryとは言いながら、これらの試験を考慮すべきであると推奨している。

3 USPにおけるFRCの取り扱い

USPは2007年末に発行されたPharmacopeial Forum Vol. 33 (6) (2007)および2009年に発行されたPharmacopeial Forum Vol. 35 (5) (2009)において、意見募集を目的として、GENERAL CHAPTERSのGeneral Information <1059> EXCIPIENT PERFORMANCEを提案している。

そのBriefingに提案の目的が記されている。すなわち、一般的に、医薬品製剤は薬理効果を有する薬効成分と添加剤からなる。添加剤は製剤の製造、安定性、機能に重要な役割を果たす。

製剤機能の一定性(consistent performance)を保証するのに十分な添加剤の特性というものは剤形、個々の製品、製造工程、必要とされる機能に依存し、変わってくる。National Formulary (NF)の添加剤の各条には添加剤のidentity, quality, purityを確認するため規格と試験法が記載されているが、製剤の機能にcriticalな添加剤の特性に関する試験法や規格のすべてを添加剤各条に規定することはできない場合もある。このようなFRCに関する不備を補うためにこのchapterが提案された。

「<1059>Excipient Performance」の内容は、剤形により大きな分類がなされ、剤形ごとに添加剤の使用目的、機能が分類されている。分類された添加剤の使用目的ごとに添加剤の機能の定義、機能を発現するメカニズム、物理的特性、化学的特性、関連するGeneral Chaptersの項目と番号、場合によっては追加の情報が記されている。USPにおいては、NFのExcipientsの項において、添加剤がどのような使用目的、機能をもつかが既に記されているため、「<1059>Excipient Performance」では添加剤の使用目的、機能と一般試験法との関連を示すにとどまっている。EPにおいては添加剤の使用目的、機能とFRC関連の試験法が各条を参照することによりすぐわかるのとは対照的である。

4 FRCに関連する一般試験法の収載状況

<1059>Excipient Performanceには添加剤のFRCに関連する一般試験法General chaptersのリストが記されている。Crystallinity Determination by Solution Calorimetry<696>、Color-Instrumental Measurement<1061>、Gel Strength of Gelatin<1081>、Tensile Strength<881>、Scanning Electron Microscopy<1181>などはJPやEPにまだ収載されていないが、試験法の名称を比較する限り大部分の試験法は三局に既に収載されていると考えることができる。また、一般試験法の国際調和が進行し、錠剤やカプセル剤に用いられる添加剤のFRC関連の試験項目として重要な位置を占める「比表面積測定法」、「粒度測定法」、「かさ密度及びタップ密度測定法」、「粉体の粒子密度測定法」などの粉体特性に関する試験法は三薬局方で調和され

た試験法である。

しかし、試験項目は同じであっても、方法が異なる場合もある。例えば、Chelating and/or Complexing Agents や Antioxidant の FRC に関連する試験法として鉄試験法がリストされている。JP における鉄試験法は 2,2'-ビピリジルと鉄イオンとの錯体形成による発色を利用してのに対して、EP や USP ではチオグリコール酸との錯体形成を利用しており、項目名は同じであっても試験法は異なる。国際調和した添加剤のなかで、この鉄試験が規定されている品目にコムギデンプン、トウモロコシデンプン、バレイショデンプン、コメデンプンがある。EP あるいは USP が Coordinating Pharmacopeia であり、調和前の JP のデンプン類には鉄試験が設定されていなかったことから、デンプン類の各条の国際調和においては、鉄試験としてチオグリコール酸を用いる方法が採用され、JP においては各条に詳しく試験法を書くことによって対応する必要が生じた。また、錠剤、カプセル剤の結合剤の試験法としてリストされた粘度測定法においても、JP と EP の一般試験法ではキャピラリー法による粘度測定はウベローデ型粘度計を用いることになっている。一方、USP では一般試験法と異なる粘度計を各条において指定する場合もある。例えば、結晶セルロースにおいては「キャノン・フェンスケ型粘度計あるいはそれと同等の粘度計」を用いることになっている。FRC 関連の試験法についての国際調和が進めばこのような問題は解決されると思われる。

5 FRC に関連する試験法の JP への取り込みおよびその国際調和の重要性

添加剤各条の三薬局方の国際調和は、添加剤の調達の国際化、多様化を促すと思われる。しかし、添加剤の FRC は供給元によって大きく変動する場合もあり、また、同一の供給元の製品であっても、バッチ間の変動も大きいと言われている。一定の performance を有する製剤を製造するためには、添加剤の FRC のなかで、製剤の機能に影響を及ぼす critical な特性を明らかにし、最適な処方やプロセスの制御が不可欠である。それは、添加剤メーカーとユーザーが同じ物差しを使って当該添加剤の FRC 特性を試験し、そのデータに基づいてコミュニケー

トすることによってはじめて実現するものであり、添加剤各条が調和し、添加剤の化学的特性が三薬局方間で一定であることに加えて、三薬局方間での FRC 関連の試験法が調和していることが重要になってくると思われる。

D 結論

薬局方各条の中で、医薬品添加剤の FRC の意義と規格化について検討した。添加剤は、製剤中に処方された後、様々な functionality を発揮するので、それを左右する物理的性質である FRC は添加剤の品質特性として極めて重要である。

しかし、FRC と製剤の functionality との関連は複雑であり 1 対 1 には対応しない。また同一の添加剤でも用途の違いにより、品質保証の上で必要となる FRC に差がでることが、他の化学薬品各条規格とは全く異なる添加剤の特徴である。

これらの事実を踏まえて、日本薬局方の見解としては、

- ① 添加剤の FRC は、処方された製剤における functionality を左右するが、最適な FRC 値は添加剤製造者と添加剤ユーザーとしての製剤メーカーの間で確認すべきものである。
- ② 添加剤の FRC は、処方された添加剤の特性を表わす重要な項目であり、差別化、用途別の選択、品質の保証にも重要であるので、薬局方に収載された添加剤の各条に、FRC の試験法を収載する方向を支持する。
- ③ 添加剤の基本的なタイプを同定するのに必要な物理的特性（ポリマーの粘度や置換度など）で、望ましいグレードを確認するための FRC は、基準値（範囲）を設定する。
- ④ 上記③以外については基準値を定めず判定基準とはしない（non-mandatory とする）ことが望ましい。
- ⑤ ラベル表示は、上記③のような場合には必要であるが、用途により表示の意味がない場合が生じるので、原則としては要求しない。
- ⑥ 各条に記載された試験も、添加剤としての用途次第では、すべてを実施する必要はないという共通理解を、行政及びユーザーが持つべきである。
- ⑦ 添加剤の FRC に関連する一般試験法の国際調和も重要であると思われる。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

なし

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金

分担総合研究報告書

理化学試験法に関する研究

—高周波誘導結合プラズマ発光分光法(ICP-AES)の検討—

分担研究者 中村 洋 東京理科大学薬学部

研究要旨

本研究は日本薬局方一般試験法の高度化の一環として遂行するものであり、約 80 種類の元素の同時定量が可能であるという長所を有する高周波誘導結合プラズマ発光分光法 (ICP-AES) の薬学分野への応用性を検証するために行った。関節リウマチ薬の金チオオリンゴ酸ナトリウムをモデルに、試料溶液からの試料溶液中からの Au(III)の選択的捕集・回収条件の検討を行い、さらにラット体毛中の微量な Au(III)の測定を可能にするために、最適化条件を確立した。さらに実際にラットに金チオオリンゴ酸ナトリウムを投与し、体毛中に Au(III)が移行、特に腹部に高濃度に移行することを明らかにした。

以上の研究から ICP-AES が薬学分野で十分に有効利用できることを立証することができた。

A. 研究目的

高周波誘導結合プラズマ発光分光法 (ICP-AES、Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry) は無機金属元素の代表的な分析法であり、(1) ほとんどの元素について超微量レベルの分析ができる、(2) 検量線の直線範囲 (ダイナミックレンジ) が 4 ~5 桁と広い、(3) 多元素を同時かつ迅速に分析可能である、(4) 広範囲の元素について高感度・高精度に定量ができる、などの特徴がある。このような分析化学的長所を有する ICP-AES は、材料分析をはじめ最近では環境分析などの分野においても益々普及しつつあり、製薬産業における分析法としても有望と思われる。

本研究は、ICP-AES が日本薬局方一般試験法に記載されることを前提として、その有効性をラットに経口投与した金属含有医薬品の体内動態解析を通して検証することを目的として実施した。

B. 研究方法

ICP-AES 装置及び測定条件

ICP-AES には SPS7800 (セイコーインスツルメンツ) を使用し、アルゴンプラズマ条件は Rf 周波数 27.12 MHz, Rf 出力 1.2 kW, プラズマガス流量 16 L/min, 補助ガス流量 0.7 L/min, キャリアーガス流量 0.4 L/min, プラズマ観測高さはコイル上 15 mm とした。

試薬

今年度新たに用いた試薬は硝酸 (原子吸光分析用、関東化学)、過酸化水素 (原子吸光分

析用、関東化学)、アセトン(特級、関東化学)であり、その他の試薬は前年度と同一である。なお、分析に供した飼料は東京理科大学薬学部動物舎で使用されている Labo MR stock(日本農産工業株式会社製)である。

1) 薬学部動物舎で使用している飼料の分析操作

まず、ラットを薬学動物舎で飼育するに当たり、ラットが通常摂取する飼料及び水が本研究に及ぼす影響について調べた。

テフロン製のビーカーに乳鉢で粉末状になるまですりつぶした Labo MR stock 1.0 g 及び硝酸 18 mL, 過酸化水素 9 mL を加えて一晩放置後、ホットプレート上で 200°C、3 時間加熱して飼料を分解した。分解が完了して固形物がなくなったら分析試料の酸濃度を低下させるためにホットプレート上で酸を蒸発乾固させた。残留物を水で 50 mL に希釈して分析試料とした。ICP-AES の測定条件は前年度と同様である。

2) 飲料水の分析操作

飲料水の分析の場合は、(1) 飲料水が液体であること、(2) そのまま分析しても ICP-AES での測定に影響を与える因子はないと考えられること、などの理由から前処理は行わず、そのまま分析に供した。

3) ラットの採毛・洗毛・体毛の分解方法

実験に使用したラットは Wistar 系(♀、3 週齢)であり、飼育中は薬学部動物舎(室温 23±2°C、湿度 55±5%)で飼育し、小動物用固形飼料(Labo MR stock)及び飲料水を自由摂取させた。

まず投与前にラットの全体毛を専用のシェーバー(小動物用)で刈り取った。刈り取った体毛はブランク試料として分析に供した。全毛を刈り取ったラットに金チオリンゴ酸ナトリウムを腹腔内投与した。投与後一定時間後に新たに生えてきた体毛を採取して分析に供した。

ラットの体毛はアセトンで 1 回、次いで水で 3 回、アセトンで 1 回洗浄した。洗浄後は真空中で乾燥させて次の分解操作を行った。

体毛の分解は密閉系での湿式分解法(マイクロウェーブ湿式分解法)で行った。ラット体毛の分解に使用する酸は硝酸及び過酸化水素(原子吸光分析用)とした。硝酸と過酸化水素は 2:1 であった。ラット体毛に硝酸及び過酸化水素を加え一晩放置してから加熱して分解させた。具体的には装置の内部容器にラット体毛 50 m、硝酸 4 mL, 過酸化水素 2 mL を入れ、少量の水を入れた外部容器に入れ、専用のレンチで密閉した。外部容器を電子レンジ(東芝製、ER-VS1CK)で 12.5 分加熱してラット体毛を分解した。氷浴で冷却後、内部容器を取り出して開栓し、ホットプレート上で加熱して酸を蒸発乾固させた。残留物を水で希釈し分析試料とし ICP-AES で測定した。

4) ラットへの金製剤投与方法、採毛方法及び前処理方法

ラットに金チオリンゴ酸ナトリウムを腹腔内投与し投与後所定の時間経過の後に体毛を専用のシェーバーで刈り取り、採取した体毛を分析に供した。

C. 研究結果

C-6-1 高周波誘導結合プラズマ発光分光法(ICP-AES)の局方一般試験法への収載に向けた検討として、関節リウマチの治療薬:金チオリンゴ酸ナトリウムを例にとり、試料溶液中か

らのAu(III)の選択的捕集・回収条件、Au(III)のICP-AESによる定量条件などについて検討した。その結果「pH 2.0に調整した試料溶液10 mLをDEAEカートリッジに通し、カートリッジに吸着したAu(III)を0.5 M亜硫酸アンモニウム水溶液5 mLで溶離する」手法を確立し、定量的にAu(III)を回収することに成功した。

C-6-2 重金属測定における有用性で注目されている高周波誘導結合プラズマ発光分光法(ICP-AES)を使用し、金属含有医薬品投与患者毛髪中金属濃度の測定を行い、これを指標としてコンプライアンスの評価が可能かどうかを評価した。関節リウマチの治療薬：金チオリンゴ酸ナトリウムを例にとり、ラット体毛中からのAu(III)の選択的捕集・回収条件を検討した結果、低濃度のAu(III)測定においては、体毛を溶液化した試料にAu(III)を少量添加すると、高効率かつ定量的に回収可能であることをみいだした。

C-6-3 約 80 種類の元素の同時定量が可能である高周波誘導結合プラズマ発光分光法(ICP-AES)について、局方一般試験を含めた薬学分野への応用を検討した。ICP-AESが生体金属の一斉分析に有用であることを示し、さらに体毛などの生体試料中に含有される微量金属の定量的な前処理・回収法を確立した過去2年間の研究をもとに、リウマチ治療薬の金チオリンゴ酸ナトリウムをラットに投与し、Au(III)の生体内動態について検討した。その結果、Au(III)の体毛への移行は投与部位によらずラットの腹部に選択的であることなどが判明し、ICP-AESが医薬品の体内動態解析等、薬学分野で有効利用できることを立証した。

D. 金チオリンゴ酸ナトリウムからのAu(III)の生体内動態に関する考察

投与に先立ちAuは飼料及び水中に全く含まれておらず、薬学動物舎でラットを飼育するに当たり、ラットに飼育期間中、水及び飼料を自由に摂取させても本研究に及ぼす影響は全くないことを確認、飼料及び水を自由摂取させることとした。

はじめに、ラットに金チオリンゴ酸ナトリウムを腹腔内投与し、どの程度の期間で投与したAuが体毛へ蓄積するかを調べた。金チオリンゴ酸ナトリウムを投与してから5週間後の体毛中のAuの濃度が最も高いという結果が得られたが、投与する前にブランク体毛試料として全体毛を刈り取ってしまったこと及び体毛が生え変わるには5週間程度の期間を要することから5週間毎の採毛になってしまい、この実験だけでは「どの程度の期間で投与したAuが体毛へ蓄積するか」という疑問には正確に答えることができなかった。そこで、金チオリンゴ酸ナトリウムを投与していないラット体毛にはAuは全く含まれていないことから、ブランク体毛試料を採取するのを止め、採毛間隔の短縮を図り、「どの程度の期間で投与したAuが体毛へ蓄積するか」という疑問への正確な答えを引き出すべく、金チオリンゴ酸ナトリウムを投与してから1, 3, 5週間後の体毛の分析を行った。その結果、金チオリンゴ酸ナトリウムを投与してから3~5週間の間に投与したAuが最も体毛中に移行するという結論に達した。投与してからすぐではなく3~5週間という比較的長い時間を経て最も体毛中に移行するという事は、人間の場合、金チオリンゴ酸ナトリウムの投与期間が比較的長いという事実とも一致する。

体毛の蓄積部位に関する実験の結果、投与部位に関係なく投与した金チオリンゴ酸ナトリウムが腹部の体毛に蓄積するということがわかった。体毛の採取量が腹部の方が背部よ

りも少ないので相対的に体毛中の Au の濃度が高くなったとも考えられるが、腹部の体毛の採取量が背部と比較して少ないとは言ってもおよそ 1/2 程度はあるので、体毛採取量だけでは体毛中の Au の濃度に大きく差がでないはずである。よって、「投与部位とは関係なく腹部の体毛に蓄積する」ことが明らかである。この理由に関しては以下のような可能性が考えられる。即ち、薬物の体毛への移行メカニズムは血液経由であり、したがって、ラットの腹部には背部よりも大きな血管が多く存在しているため、腹部に選択的に蓄積した可能性が考えられる。

投与量と体毛蓄積度の関係について調べた。「体毛分析により、医薬品の摂取状況の判別を可能にする」ということが本研究における最大の目的であったが、そのためには投与量と体毛蓄積度との間に相関関係が成り立つことが必要不可欠である。実験の結果、投与量と体毛蓄積度との間に高い相関関係が成り立つことが分かり、体毛中の Au の濃度と投与量をグラフにプロットして作成した近似曲線が描けた。よって、投与量が未知のラットでも体毛中の Au の濃度を測定すれば、近似曲線より投与量がわかるということになる。このことを人間に応用した場合、毛髪を採取して分析することにより、医薬品の摂取状況が把握できる可能性を秘めている。

連続投与についての検討を行った。その結果、連続投与により体毛中への Au の蓄積が見られた。連続投与が終わって 1 週間後のラットは投与前よりもかなり弱っているのが見た目にも明らかで連続投与により体内へ蓄積して結果、副作用が発現したものと思われる。医薬品が本来の薬効を発現するためには連続投与により投与量を有効量と中毒量との量にする必要があるが、連続投与により中毒量を超えたため、ラットが弱っていったと考えられる。

人間の場合、臨床上の投与量は 10~100 mg であり、人間とラットの体重差を考慮すると本研究における投与量は数十倍多い。したがって、投与量を臨床適用レベルにした場合、検出できなくなる可能性もあり、実際の人間の毛髪分析に応用する場合には検出感度をさらに向上させる必要があると思われる。

以上、Au (III) の体毛への移行は投与部位によらずラットの腹部に選択的であることなどが判明し、ICP-AES が薬学分野で十分に有効利用できることを立証することができた。

E. 健康危険情報

特になし

F. 研究発表

1. 論文発表：なし
2. 学会発表：なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

厚生労働科学研究費補助金
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)
分担総合研究報告書

医薬品を巡る環境の変化に対応した日本薬局方の改正のための研究
—固体状医薬品の物性測定に関する基礎的検討—

分担研究者 松田芳久 神戸薬科大学教授

研究要旨 固体状原薬及び添加剤の粉体物性の評価方法を確立するために、(1)レーザー回折・散乱法の試料の作成を乾式で行った際の問題点を検討するとともに、(2)固体製剤の水分吸脱着特性および水分活性について、代表的な14種類の添加剤を対象として測定し、その有用性について検討した。その結果、(1)乾式試料分散法は操作変数の許容範囲が比較的広く、かつ操作も簡単で試料の処理時間も短いので、少しでも溶解性を示す医薬品粉体に対しては湿式分散法に優っている；(2)吸脱着曲線のヒステリシス（履歴現象）から吸湿性を合理的に評価できることが確認され、特に、同じ含水率を示す試料であっても、吸湿後の脱離曲線の特徴によって「吸湿性」を一層明確に表現できることが示唆された。

研究協力者 寺岡 麗子 神戸薬科大学講師

A. 研究背景と目的

医薬品原薬や製剤用添加剤の粉体物性（粒子径、粒子径分布、比表面積、粒子密度、流動性、圧縮性など）が剤形の如何を問わず最終製剤の特性に密接に関係し、ひいては製剤のバイオアベイラビリティにも著しい影響を及ぼすことはよく知られている。これらの事実を踏まえて、薬局方においても合理的かつ科学的妥当性に基づいた、粉体物性を対象とした一般試験法の国際調和の必要性が認識され、活発な調和作業が進められている。

各種の粉体物性測定法のうち、これまでに調和が完了した比表面積測定法、粒子径測定法（光学顕微鏡法及びふるい分け法）、粉体の流動性、粉体の粒子密度測定法、かさ密度及びタップ密度測定法、粉体の細かさの表示法等があり、日局においても一般試験法又は「参考情報」として順次取り込まれてきた。このような粉体物性測定法に加えて、調和作業が進行している項目として、レーザー回折法は粉体の吸湿現象に関する試験法がある。

そこで本研究では、(1)レーザー回折・散乱法を粒子径測定法の一つとして十分に活用するための基礎的資料を提供することを目的として、試料の作成を乾式で行った際の問題点を検討するとともに、(2)日局に取り込む際の参考資料として、固

体製剤の水分吸脱着特性および水分活性について、代表的な14種類の添加剤を対象として測定し、その有用性について検討した。

B. 研究方法

(1) レーザー回折・散乱法

1) 装置

島津レーザー回折式粒度分布測定装置（SALD-2200、島津製作所）及び乾式測定ユニット（SALD-DS21）を用いた。装置の基本的な仕様は以下のとおりである。

- ・測定原理：レーザー回折・散乱法
- ・測定範囲：0.03・1000 μm
- ・使用光源：半導体レーザー（680 nm）

2) 測定手順

測定の概略手順は以下のとおりである。

- 1) 試料粉体を装置のターンテーブル上に円周に沿って環状に作られた溝の中に投入する。
- 2) 集塵機を運転した状態でブランク測定を行い、光強度のベースライン設定を行う。
- 3) PCソフトウェアを「測定待ち」の状態に

して、ターンテーブルを回転させながらエアバルブを開き、試料を測定部に噴射する。

4)測定結果が PC のディスプレイ上に表示される。

3) 試料

試料として以下の粉体を使用した。

- ・日本薬局方沈降炭酸カルシウム(吡小西利七商店、Lot No.120205)
- ・日本薬局方タルク (日興製薬株式会社、Lot No.532260)

(2) 水分吸脱着特性および水分活性測定

1) 試料

以下に示す 14 種類の添加剤を試料としてそのまま使用した。

- ・乳糖 100M(DMV INTERNATIONAL、Lot No.22522)
- ・乳糖 200M(DMV INTERNATIONAL、Lot No.10064365)
- ・乳糖 DCL-21(DMV INTERNATIONAL、Lot No.301821)
- ・ポビドン (PVP、半井化学薬品 (株)、M2M9737)
- ・ヒドロキシプロピルセルロース (HPC-L、信越化学工業 (株) Lot No. JA-0081)
- ・低置換度ヒドロキシプロピルセルロース (L-HPC、日本曹達 (株) Lot No/406144)
- ・ヒプロメロース(TC-5、信越化学工業 (株) Lot No.513)
- ・カルメロース(CMC、五徳薬品 (株) Lot No. N7E160)
- ・カルメロースカルシウム(CMC-Ca、五徳薬品 (株) Lot No. E7A743)
- ・クロスカルメロースナトリウム(旭化成工業 (株) Lot No. T-828)
- ・結晶セルロース(MCC、旭化成工業 (株) Lot No. 1042)
- ・D-ソルビトール (和光純薬 (株) Lot No.EPR7858)
- ・ゼラチン G-2509P (新田ゼラチン (株)、Lot No.081016)
- ・ゼラチン G-2510P (新田ゼラチン (株)、Lot No.081016)

2)装置、手順

① 動的水蒸気吸着測定

秤量皿を洗浄し、十分乾燥させた後、試料約 10mg を測りとる。相対湿度 RH(%)の上限を 35、55、75 95%に設定すると、プログラムに従って 5%ごとに RH が上昇し、その湿度下で平衡状態を示した試料質量が自動的に測定される。相対湿度が設定した上限に達したら、続いて 5%ごとに湿度が低下し、同様に試料質量が測定される。測定データから、付属のプログラムを用いて、吸脱着曲線を求める。

② 水分活性測定

試料を測定容器に約 5g 入れ、以下の塩類飽和溶液による調湿した 容器内 (25℃) に入れ、1 週間保存した。保存後の試料を水分活性恒温測定装置 (LabMaster^{aw}、日本シベルヘグナー (株) にセットする。試料とヘッドスペースの間に完全に気液平衡が成立するのを待ち、それから試料上部の空間の湿度 (水分活性値) を測定する。なお、試料の水分活性を測定する前に、付属標準の校正用標準塩 (飽和塩) を用いて、キャリブレーションを行った。

保存湿度：33%RH (塩化マグネシウム飽和溶液)、55%RH (硝酸マグネシウム 6 水和物飽和溶液)、75%RH (塩化ナトリウム飽和溶液)、95%RH (硝酸カリウム飽和溶液)

③ 粉末 X 線回折測定

試料を粉末 X 線回折用ガラス板に充てんし、下記の条件で測定した。

装置：粉末 X 線回折装置 (RINT-ULTIMA, RIGAKU)

条件：線源 CuK \cdot 線, Ni フィルター

回折角測定範囲：5 \sim 40 $^{\circ}$ (2 \cdot)

スキャン速度：4 $^{\circ}$ /min

C. 研究結果と考察

C-1 レーザー回折・散乱法に関する検討

乾式分散法において粒子径分布に影響を及ぼすと考えられる因子は、①試料の分散圧力及び②試料濃度である。2 種類の試料について、以下の

2つの因子の影響を検討した。

[沈降炭酸カルシウム]

1) 分散圧力の影響

噴射式乾式測定においては、分散圧力が試料の分散状態を決定する主たるパラメータである。通常、圧力が高くなるほど良好な分散状態が得られる。そこで、分散圧力を3水準に変化させて測定結果に及ぼす影響を以下の測定条件で検討した。

分散圧力が比較的低压(0.2及び0.3MPa)の場合にはデータの再現性は概ね良好といえるが、高压(0.5MPa)になるとデータはばらつきがやや大きくなる傾向が認められた。これは比較的粗粒子を含む試料を測定するときに、噴射圧力を高くした時にみられる一般的傾向である。この原因は不明であるが、噴射圧力が高くなるほどノズルの先端から噴射される試料粒子(一種のエアロゾル)の均一性が悪くなるためではないかと推測される。圧力が0.2及び0.3MPaの場合には、両条件下での測定結果の間には有意であると考えられるほどの乖離はない。したがって、条件的にはいずれの圧力を採用しても問題はないと考えられた。

2) 試料濃度の影響

噴射式乾式測定における試料濃度を決定するパラメータである、ターンテーブルの回転速度を変化させて測定結果に及ぼす影響を検討した。ここで、回転速度が大きくなるほど、試料濃度は増加する。なお、この場合、分散圧力は0.3MPaに固定し、粒子屈折率は1)の場合と同じである。

ターンテーブルの回転速度が同一の3つのデータ間にはばらつきは認められず、さらに異なる回転速度間での測定結果の間でも有意な数値の差は認められなかった。なお、9つのデータから得られたメジアン径の平均値(21.6 μm)は、湿式分散法において8社の装置を用いて行った際の平均値(18.7 μm)と極めて近似しており、メジアン径に関しては湿式法と乾式法の間には有意な相違はないといえる。これらに対して、回転速度が高くなるほど散乱光強度は増加しており、測定室内での試料濃度が増大していた。一般的傾向として、試料濃度が高くなるほど、多重散乱の影響

により粒子径分布曲線はやや微粒子側へシフトした。しかし、本試料については、この濃度範囲内ではデータに対する悪影響は認められなかった。そこで各データの光強度分布曲線を最大強度においてノルマライズしたところ(レーザー回折・散乱法においては、光強度分布曲線の形状によって粒子径分布が決定されるので、最大強度でノルマライズした光強度分布曲線が同じ分布を示せば、粒子径分布としても同一になる)、9つのデータ間には大きな差異は認められず、これらの結果からターンテーブルの回転速度、すなわち、試料濃度がデータに及ぼす影響は微小であることが判明した。

[タルク]

タルクについても同様の検討を行ったが、同様に試料濃度がデータに及ぼす影響は小さいことが判明した。

C-2 分吸脱着特性および水分活性

[水分吸着量]

上限相対湿度を0から35、55、75、95%RHまで変化させた場合の種々の添加剤の水分吸着等温線：乳糖の場合、この測定範囲内では、水分吸着量の有意な増加は認められなかった。これに対して、他の添加剤は、上限相対湿度が増加するにつれて水分吸着量が大きくなったが、上限相対湿度が35%、55%、75%RHでは、PVPの水分吸着量がもっとも大きく、次いで、クロスカルメロースナトリウム、CMC、CMC-Ca、L-HPCの順に大きい値を示した。これに対して上限湿度が95%RHの場合は、D-ソルビトールの水分吸着量が70%RHから急激に増加し、95%RHではもっとも高い値を示し、潮解した。しかし、PVPとクロスカルメロースナトリウムも同様に高い値を示したが、潮解は起こらなかった。

上限相対湿度を75%RHに設定した場合の各種添加剤の吸脱着等温線：乳糖以外の添加剤の中で、L-HPC(i)以外は、Brunauer-Emmett-Teller(BET)の分類によるII型に近い吸着等温線を示したが、L-HPCはIII型に近かった。一

方、脱着等温線は、HPC や L-HPC、結晶セルロースでは、吸着等温線とほぼ同じ過程を示したが、CMC や CMC-Ca、クロスカルメロースナトリウム、PVP、D-ソルビトール、ゼラチン 2509P、ゼラチン 2510P においては、吸着と同じ過程を経ずヒステリシスを示した。この結果から、吸着した水分が脱離しにくい添加剤があることが明らかとなった。すなわち、一般に賦形剤として用いられる乳糖類及び結晶セルロースは吸湿性に乏しいことが半明した。これらに対して、崩壊剤であるカルメロース(d)、カルメロースカルシウム(e)、クロスカルメロースナトリウム(f)、L-HPC(g) はいずれも吸湿性が高いのに加えて、脱着曲線も吸着曲線より大幅に上回っており、顕著なヒステリシスを示した。このような現象は、これらの崩壊剤は一度吸湿すると水分を脱離しにくい特性があることから、水中における膨潤性に富むことを示唆するとともに、崩壊剤としての機能性が吸湿によって影響を受ける可能性があることも示唆している。これらことから、吸脱着等温線から「吸湿性」を評価する際には、単に吸着過程のみを解析するのではなく、脱着過程も併せて解析する必要があると考えられる。

なお、上限湿度 35%、55%、95%RH まで変化させた場合にも同様の傾向が認められた。

[水分活性]

水分活性に関する文献によれば、従来のカール・フィッシャー(KF)法を用いた全水分量の測定法は必要ではなく、水分活性の方が KF 法よりしばしば化学的、物理的又は微生物学的変化と相関性が高いとされている。また水分活性試験は非破壊的であるほか、測定が煩雑ではなく、装置も一般に安価で、再現性と精度が極めて高いという利点を有している。このような場合、水分活性試験は KF 法の代替法となり得る。ここで、物質の特性に係る水分量のうち、含水率は結合水を含む試料中のあらゆる形態の水分量であるのに対して、水分活性は試料が示す平衡湿度を示しており、密閉容器中の試料上の空間と試料表面における自由水分の間に平衡が達成された時の空間の相対湿度の $1 / 100$ (=試料が示す平衡水蒸気分圧/純水が示す平衡水蒸気分圧) で表される。したがって、異なる

物質が同一の含水率をもつことはあるが、水分活性も等しいとは限らない。

33%RH で添加物を保存した場合は、水分活性値は乳糖 100M が最も高い値を示し、乳糖 DCL21 が最も低い値を示した。また、上限湿度 35%RH で最も高い水分吸着量を示した PVP は、水分吸着量が大きかった他の添加剤に比べて逆に小さくなった。これは、一旦吸湿した水分は粒子内部に保持されて容易に脱離しにくいことを強く示唆している。

55%で保存した場合は、水分吸着量が極めて低い乳糖は、いずれのタイプでも他の添加剤よりも小さい値となった。PVP は、この条件の場合でもそれほど大きい値を示さなかった。

75%RH で保存した場合も乳糖の値は小さかったが、この条件では D-ソルビトールの値が最も大きくなった。95%RH で保存した場合は、乳糖を除くと最も水分吸着量が高かった D-ソルビトールの値が最も小さくなったが、これは、潮解が起こったためと考えられた。また、HPC は、95%RH 以外では L-HPC より水分活性は大きくなったが、この湿度では L-HPC より小さくなった。

以上のように、水分活性は、保存湿度によって変化することが判明した。水分活性で表すことができる自由水は、保存環境の温度及び湿度の変化で容易に移動や蒸発が起こる水で、医薬品の安定性に重要な影響を及ぼすと考えられる。また、測定結果から、乳糖以外の添加剤では 95%RH のような極端に高湿度条件下で保存した場合、カビが生育する 0.80 以上の値を示したことから、造粒後の乾燥条件や保存容器などの選択に注意が必要であると思われる。

[水分吸着量と水分活性の関係]

種々の添加剤を 4 水準の相対湿度で保存した場合の水分活性値とその相対湿度を上限湿度として測定した場合の吸着水分量の関係を求めたが、いずれの相対湿度においても両者の間には相関性が認められなかった。このことは、水分吸着量が増加しても水分活性が大きくなるとは限らないことを示唆している。特に吸着水分量が低いにも関わらず高い水分活性値を示す添加

剤については、水分によって分解する医薬品の安定性に影響を及ぼすことが予測されることから、添加剤の選択は十分に注意する必要があると考えられる。

[乳糖の水分吸着等温線と水分活性の関係]

乳糖 100M 及び乳糖 200M は、1 水和物結晶で、前者は分級品で、後者は粉碎品である。一方、乳糖 DCL-21 は、水分含量が非常に低い無水乳糖で、粒子は微粒子からなり、主に β 乳糖により構成されていて、打錠時に破壊されやすい性質をもち、高い成形性を示す。これら 3 種類の乳糖の保存前の粉末 X 線回折プロファイルでは、乳糖 100M 及び 200M は 1 水和物の特徴的なプロファイルを示した。これに対して乳糖 DCL-21 は、乳糖 100M 及び 200M とは異なる回折パターンを示した。これらを 95%RH で 2 週間保存した場合の X 線回折プロファイルは、1 水和物である 100M 及び 200M の場合、新しいピークは認められず、ピーク強度の増加が認められ、結晶性が高くなることが明らかとなった。一方、DCL-21 の場合、100M や 200M と同じ回折角にピークが認められたことから、一部、1 水和物に転移していることが考えられた。これらの水分吸着量は、75%RH まで上昇してもほとんど増加しなかったが、95%RH まで上昇すると、100M と 200M では、吸着水分量は、それぞれ 0.18% と 0.21% となったが、DCL-21 の場合 0.94% となり、100M と 200M より大きくなった。これは、粉末 X 線回折プロファイルの結果から、一部、1 水和物に転移したためであると考えられる。

3 種類の乳糖の水分活性値は、保存湿度や種類によって変化した 1 水和物の 100M と 200M では、100M の方が大きい値を示したが、これは、200M の製品ではかなり小さい粒子径の粒子が混在しているため、水分活性値が大きくなったと考えられた。DCL-21 の水分活性値は、低湿度側 (53, 75%RH) では 100M と 200M より大きな値を示したが、95%RH では 100M とほぼ同じ値を示した。このように 100M や 200M と異なる挙動を示したのは、保存過程で 1 水和物への転移が起こるためであると考えら

れた。

D. 結論

(1) 炭酸カルシウムとタルクを試料として乾式分散法における操作因子 (噴射圧力及び試料濃度) が測定データ (粒子径分布及び光強度分布) に及ぼす影響を検討した結果、以下の結論を得た。

1. 比較的低圧の噴射圧力では、圧力変化が粒子径分布に有意な影響を及ぼすことはなかった。
2. 試料濃度についても、濃度変化は粒子径分布曲線には有意な影響を与えなかった。
3. 上記の結果を踏まえると、乾式試料分散法は操作変数の許容範囲が比較的広く、かつ操作も簡単で試料の処理時間も短いので、医薬品粉体のように少しでも溶解性を示す試料に対しては湿式分散法より優れているといえる。

(2) 結晶性及び高分子添加剤を対象として、水分の吸脱着特性と水分活性値を測定した結果、吸脱着曲線のヒステリシス (履歴現象) から吸湿性を合理的に評価できることが確認された。特に、同じ含水率を示す試料であっても、吸湿後の脱離曲線の特性によって「吸湿性」を一層明確に表現できることが示唆された。

この検討結果は、各種の添加剤の吸湿性と機能性を客観的に評価するのに有用であると考えられる。

E. 健康危険情報

該当事項なし。

F. 発表論文

- 1) 松田芳久：多形現象を示す医薬品の製剤化における速度論的安定性評価 温度・湿度及び光の影響を中心として、*ファルマシア* 43, 111-116 (2007)
- 2) Kojima, T., Onoue, S., Katoh, F., eraoka, R., Matsuda, Y., Kitagawa, S., Tshuko, M.: Effect of spectroscopic properties on photostability of tamoxifen citrate polymorphs, *Int. J. Pharm.* 336, 346-351 (2007)

- 3) Kojima, T., Kato, F., Teraoka, R., Matsuda, Y., Kitagawa, S., and Tshako, M.: Physicochemical characterization of tamoxifen citrate pseudopolymorphs, methanolate and ethanolate, *Chem. Pharm. Bull.*, **55**, 407-411 (2007)
- 4) 小島隆史、松田芳久:医薬品開発における結晶形の効率的選択 -塩・結晶多形スクリーニングへのラマン分光法の応用- PHARM TECH JAPAN, **23**, 173-179 (2007)
- 5) 松田芳久: 固体医薬品の安定性評価 -光安定性を中心として- 粉体工学会誌, **44**, 35-44 (2007)
- 6) Kojima, T., Katoh, F., Matsuda, Y., Teraoka, R., Kitagawa, S.: Physicochemical Properties of tamoxifen hemicitrate sesquihydrate, *Int. J. Pharmaceu.*, **352**, 146-151 (2008)
- 7) 芦澤一英, 小野 誠, 石原比呂之, 柘植英哉, 勅使河原正文, 山本恵司, 松田芳久: 平成 18 年度「日本薬局方の試験法に関する研究」研究報告 水分吸脱着装置を用いた水分吸脱着量の機種間差などに関する研究, *医薬品研究*, **39**, 242-250 (2008)
- 8) 松田芳久、木下健、森康維、芦澤一英、柘植英哉、寺岡麗子: レーザー回折・散乱法を用いた粒子径測定に関する基礎的検討 -湿式分散法における測定条件及び粒子特性が粒子径分布に及ぼす影響-, *医薬品研究*, **39**, 475-487 (2008)
- 9) 松田芳久: 物性試験法に関わる薬局方国際調和における最近の動向、*ファーマテックジャパン*, **25**, 45-51 (2009)
- G. 知的財産権の出願・登録状況
該当事項なし.

厚生労働科学研究費補助金（医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）
分担総合研究報告書
製剤試験法の改正に関する研究

分担研究者 四方田千佳子 国立医薬品食品衛生研究所 薬品部第一室長

研究要旨 局方製剤試験に関する問題として、溶出試験、および経皮吸収製剤の放出試験について検討した。まずUSPカリブレータの問題点を指摘し、溶出試験の校正法に関して検討した。次に溶出試験結果へのベッセルのゆがみの影響を検討し、国内流通ベッセルは問題がないことを示す結果を得るとともに、マウント形成する製剤におけるピークベッセルの有用性を示した。次に経皮吸収製剤の放出試験を検討し、JPではUSPやEPが採用しているパドルオーバーディスク法に加え、シリンダー法の採用を基本とし、さらにパッチ製剤以外の軟膏剤等への適用のために拡散セル法を取り込むことが妥当と考えた。

研究協力者

保立仁美 国立医薬品食品衛生研究所
薬品部
香取典子 国立医薬品食品衛生研究所
薬品部
柴田寛子 国立医薬品食品衛生研究所
薬品部
立木秀尚 東和薬品株式会社
研究開発本部
平井伸子 東和薬品株式会社
研究開発本部

置するためのリム部分の形状等も異なるため、ベッセルを交換した場合の影響が、使用する溶出試験器にうまくフィットするものであるかどうかには依存することも考えられる。

さらに、局方製剤試験としては、溶出試験以外にも局所皮膚適用製剤では適切な放出性試験の設定が望まれている。

そこで本研究では、はじめに USP カリブレータに関する溶出試験の校正ツールとしての有用性を検討し、さらにプレドニゾン標準錠を用いて、溶出試験器のベッセルの形状の影響がどの程度認められるかを検討した。さらに最終年度は、経皮吸収製剤であるツロプロテロール貼付剤を選び、放出性のインビトロ試験法について検討した。

A. 研究目的

溶出試験は経口固形製剤の品質評価手法として、極めて重要であり、製剤に製造や、品質評価試験を外部委託する場が多くなっている現在、溶出試験結果に影響を及ぼす要因の把握、適切な試験装置のバリデーションは不可欠となっている。製剤試験法の国際調和でも、溶出試験法の校正の問題が取り上げられ、機械的校正手法の確立が望まれることとなった。

一方で、2003 年頃から、我が国の理化学用ガラス機器の専門メーカーがベッセルの製造に着手し、高精度のゆがみの少ないベッセルの供給を開始し、2005 年に溶出試験法の専門雑誌にゆがみの程度がプレドニゾン標準錠の放出性に影響を及ぼすことが報告されて以来、ベッセルの形状に関する関心が高まった。しかし、ベッセルの形状は、内面だけでなく、装置に設

B. 試験方法

B-1 USP カリブレータ、プレドニゾン錠の溶出性に対する脱気の影響

1-1. 溶出試験方法

USP プレドニゾン錠 10 mg (Lot. P) の溶出試験法: 試験液に水 500mL を用い、パドル法により、毎分 50 回転で試験を行うとき、本品の 6 個の 30 分間の溶出率は、いずれも 30-57% の範囲内にある。規定時間後、溶出液 20mL 以上をとり、孔径 0.45 μ m 以下のメンブランフィルターでろ過する。初めのろ液 10mL を除き、次

のろ液 5mL をとり、試験液とする。別に、プレドニゾン標準品約 10mg を精密に量り、エタノール 10mL を加えて溶かし、水で正確に 500mL とする。試料溶液及び標準溶液につき、紫外可視吸光度測定法により試験を行い、波長 242 nm における吸光度 A_T 及び A_S を測定し、溶出率を計算する。

溶出試験器は、プレドニゾン錠 Lot. P については、日本分光製 DT-810 を使用した。なお、プレドニゾン錠 Lot. M の試験には、富山産業製 NTR-3000、Vankel 社製 VK7000、大日本精機製 RT-3 を使用した。

1-2. 試験液の脱気方法：

脱気には、以下の方法を用いた。

- ・無加温 2 時間攪拌：試験液を加温せずに 2 時間攪拌した。
- ・一定温度に加熱し、2 時間攪拌した。(NIHS 方式では 45°C に加熱)
- ・USP 方式：試験液を攪拌しながら 41°C に加温し、直ちに吸引下攪拌しながら 0.45 μ m 以下のフィルターを用いてろ過し、さらに 5 分間減圧下で攪拌する。(ここでは、USP 法に準拠した脱気装置として、富山産業(株)製、試験液脱気装置 MDG-TS2 を使用した。)

1-3. 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°C、パドル法 50rpm で溶存酸素の測定を行った。各方法で脱気した試験液をベッセルに静かに注ぎ、カ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 \pm 0.5°C に達した時点で測定を開始し、30 秒毎にデータ収集しながら 1 時間測定を行った。各脱気法につき同様の測定を 2 回ずつ行って、平均値をとった。

B-2 ベッセル形状の溶出試験への影響

2-1 ベッセル形状測定と溶出試験方法

ベッセルとして、約 15 年前に製造され 10 年以上使用されたベッセル A、より改良を目指して試作されたベッセル B、高精度ベッセルをうたった製造メーカーのベッセル C、最近の通常使用のためのベッセル D、最近の基準ベッセ

ルとされているベッセル E の 5 種類のベッセルを使用した。

ベッセル A、B 及び C につき、ベッセルの形状測定を埼玉県産業技術総合センターに依頼し、Brown & Sharpe 高精度三次元測定機 PMM-C700P により、フランジ部上面から 70mm 位置の直径及び円心度、円筒度、真球度、同心度を測定した。また、三次元測定から理想形状からのずれを測定した。

USP プレドニゾン標準錠 10 mg (Lot. P) の溶出試験法：試験液に水 500mL を用い、パドル法により、毎分 50 回転で試験を行った。通常、規定時間後、溶出液 20mL 以上をとり、孔径 0.45 μ m 以下のメンブランフィルターでろ過するか、あるいは、あらかじめ試験結果に差がないことを確認して、ポリエステルフィルター F-72 を使用して、経時的に自動サンプリングし、フローセルで波長 242 nm における吸光度 A_T 及び A_S を測定して溶出率を計算した。

別に、プレドニゾン標準品約 10mg を精密に量り、エタノール 25mL を加えて溶かし、水で正確に 500mL とした。試験液の脱気は、45°C で 2 時間加温攪拌した。

溶出試験器として、主に富山産業製 NTR-8000AC を使用し、他の溶出試験器との比較では、国内で販売されている 2 機種、大日本精機製 RT-3 及び日本分光製 DT-810 を使用した。

2-2. ピークベッセルの溶出試験への影響

試料には USP 標準錠剤である USP プレドニゾン標準錠 10mg (Lot. POE203) および市販のガスター錠 20mg (アステラス製薬(株)製)、および開発中の薬物 A 含有製剤 a と b の各 1 ロットずつを用いた。製剤 a と b は薬物 A 以外の添加物組成が異なる同剤形の製剤である。

試験液に水 900 mL を用い、パドル法により、毎分 50、75 及び 100 回転で試験を行った。規定時間後、溶出液 10 mL を正確にとり、孔径 0.45 μ m 以下のメンブランフィルターでろ過した。初めのろ液 5 mL を除き、次のろ液を試料溶液とした。別に、ファモチジン標準品約 66 mg を精密に量り、水を加えて正確に 300 mL

とした。この液 5 mL を正確に量り、水を加えて正確に 50 mL とし、標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液につき、紫外可視吸光度測定法により試験を行い、波長 272 nm における吸光度 A_T 及び A_S を測定し、溶出率を計算した。

製剤 a および b の溶出試験では試験液に pH6.8 液 900 mL を用い、パドル法により、毎分 50 回転で試験を行った。pH6.8 の試験液は第十五改正日本薬局方 溶出試験第 2 液を用いた。また、測定は、高速クロマトグラフ法により行った。

溶出試験装置は富山産業（株）製 NTR-8000AC、NTR-6100A および日本分光（株）製 DT-810 を用いた。ベッセルには一般に使用される日本薬局方第十五局「溶出試験法」に適合した（株）高尾製作所製 高精度ガラスベッセル（以下、JP ベッセルという）を用いた。ピークベッセルは、DISTEK 社製 PEAK Vessel を用いた。溶出率測定用の分光光度計は、（株）島津製作所製 UV-1600 を、また、高速液体クロマトグラフは（株）島津製作所製 LC-10A システムおよび LC-2010CHT システムを用いた。

B-3 経皮吸収製剤のインビトロ放出試験の検討

ツロブテロール製剤として、市販の 13 製剤を使用した。ツロブテロール定量用標準品は供与されたものを使用した。溶出試験器として、富山産業製 NTR-8000AC を使用し、パドルオーバーディスク用のディスクは Quality Lab Accessories(USA) から購入した Part. No.APPFIVE-V35 のものを、回転シリンダーは富山産業製のものを、FDA 法におけるテフロンメッシュ付き時計皿は、ハンソンリサーチ社製のものを使用した。ツロブテロールの放出率は逆相 HPLC または UV 測定により定量した。

B-2

研究結果

C-1 USP カリブレータの確認

1. プレドニゾン錠（Lot. P）の各脱気法に

おける溶出率

蒸留水を各脱気法に従って脱気後、プレドニゾン錠（Lot. P）の溶出試験を実施した。その結果、いずれの脱気法による試験も新しい規格には適合した。脱気が弱いほど、溶出率のばらつきは大きいものの、無加温で 2 時間攪拌して、より空気を混合した状態でも、6 個の全ての溶出率が許容範囲内にあり、装置の状態が良ければ、Lot.P による試験では、脱気状態が悪くとも、検出できないことが明らかとなった。

2. プレドニゾン錠の Lot. P と Lot. M における脱気の溶出率に及ぼす影響と規格幅の関係

平成 13 年度の厚生労働科学研究で実施したプレドニゾン錠の Lot. M に対する類似の試験結果と、今回の Lot. P における試験結果を比較した。いずれのロットでも、試験液中の酸素飽和度が高くなると、プレドニゾン錠の溶出率は高くなり、両方の Lot における溶出率変化は 10%程度であるが、許容される規格の幅が Lot. P ではるかに広いため、脱気が悪い状態でも、Lot. P での検出の可能性がより低いことが示された。

C-2 溶出試験器のベッセルの形状とその影響

1. 各ベッセルの形状の測定結果

ベッセル A、B 及び C の三次元測定機による形状の測定値の結果より、ベッセル A は 15 年以上以前に購入し、10 年以上使用したもので、もっともゆがみは大きかった。ベッセル B はその後改良されたベッセルであり、ベッセル C はもっとも高精度のベッセルとされているものである。それぞれの理想形状からのずれは中間であった。ベッセル C がもっともずれが少ない傾向が見られた。

2. プレドニゾン標準錠（Lot. P）の溶出性に及ぼすベッセルの影響

蒸留水を脱気後、5 種類のベッセルを用いて

プレドニゾン標準錠 (Lot. P) の溶出試験を実施した。今回の溶出試験では、いずれのベッセルを使用しても、適切にバリデートされた溶出試験器を用いている限り、標準錠の溶出性に差は認められないことが示された。この5種類のベッセルには、ベッセルの形状が問題視される以前に作製されたベッセルAも含んでいることから、少なくとも我が国で発売されてきているベッセルに関しては、ベッセルの形状の差は、標準錠の溶出性に差を生じさせる要因とはならないことを示唆した。

3. 国産の3種類の溶出試験器による、プレドニゾン標準錠の溶出性

我が国で発売されている3種類の溶出試験器を用いて、標準錠の溶出試験を実施した。ここで使用したベッセルは、ベッセルBやベッセルCと同等なものであったが、少なくとも適切にバリデートされた試験器を用いる限り、プレドニゾン標準錠の試験結果に大きな差は認められなかった。

4. ピークベッセルのマウント防止効果

JPベッセルおよびピークベッセルを用いて、プレドニゾン標準錠の溶出試験を行い、それぞれの条件でのマウント形成の有無と製剤の状態を目視で確認した。その結果、JPベッセルでは、プレドニゾン標準錠の崩壊後、堆積物がベッセルの底でマウントを形成した。試験液は澄明で、試験開始30分後でも、マウントは残っていた。一方、ピークベッセルでは、製剤崩壊の後、ベッセルの底のピーク表面にわずかに堆積物があるのみで、マウント形成を認めなかった。

5. JPベッセルとピークベッセルの比較

JPベッセルおよびピークベッセルを用いて2種a,bの製剤の溶出試験を行った。

その結果、製剤aはJPベッセルおよびピークベッセルのどちらの試験条件でもマウント形成は認めず、15分以内にほぼ100%の溶出率

に達した。一方、製剤bはピークベッセルではマウントを形成せず、15分以内にほぼ100%の溶出率に達して、製剤aとほぼ同じ溶出挙動を示したが、JPベッセルではマウントを形成し、180分後でも溶出率は100%に達しなかった。

6. パドル回転数とピークベッセルの比較

プレドニゾン標準錠とガスター錠20mgを用いて、ピークベッセルでの毎分50回転の溶出試験と、JPベッセルでの毎分50、75および100回転での溶出試験を行い、それぞれの溶出率を比較した。その結果、プレドニゾン標準錠は、JPベッセルの毎分50回転の条件ではマウントが見られ、30分後の溶出率は50%程度であった。ピークベッセルの毎分50回転、JPベッセルの毎分75および100回転ではマウントは見られず、30分後の溶出率は90%以上であった。ピークベッセルでの毎分50回転の溶出挙動は、JPベッセルの毎分100回転とほぼ同じであった。ガスター錠20mgは、JPベッセルの毎分50回転の条件ではマウントが見られ、30分後の溶出率は65%程度であった。ピークベッセルの毎分50回転、JPベッセルの毎分75および100回転ではマウントを形成せず、60分後の溶出率はほぼ100%であった。ピークベッセルでの毎分50回転の溶出挙動は、JPベッセルの毎分100回転とほぼ同じであった。

C-3. 経皮吸収製剤のインビトロ放出性試験の検討

1. ツロブテロール全製剤における試験結果

ツロブテロールテープ13製剤の規格試験法はA~Gの7種類に分かれており、同じ規格設定されているものでは放出挙動はほぼ類似していた。試験法は、パドルオーバーディスク法に準じるものがほとんどであり、シリンダー法が製剤Aのみで採用されていた。試験液のpHが若干異なっていたが、多くは試験液を水とする(液量は500mLあるいは900mLなど)、パドルオーバーディスク法で、回転数は50回転、試験液温度は32度であった。製剤Aではシリ

ンダー法を、製剤 D-1、D-2 では FDA 法であるテフロンメッシュ付き時計皿を用いていた。また、製剤 C では、唯一膜を使用していたが、疎水性膜であった。試験法は若干異なるものの、大きく比較して、放出の制御が比較的遅い製剤 B、製剤 D、製剤 G、製剤 A、製剤 E、製剤 F の順に放出が速い結果となった。製剤 C では一見放出が遅くなっているが、これは疎水性膜を使用しているため、膜透過が律速となっておりため、試験法として好ましくない。

2. シリンダー法とパドルオーバーディスク法による放出性の差

製剤 A について、pH4.2 の緩衝液を用いたパドルオーバーディスク法、及び水を試験液としたパドルオーバーディスク法で試験を実施し、結果を比較したところ、試験液が同じ場合には、シリンダー法でもパドルオーバーディスク法でも、放出挙動に大きな差は認められなかったが、試験液を水とすると、放出が速くなった。これは pH 及びイオン強度が低くなったために、放出を制御するテープ基剤に影響を及ぼすのではないかと考えられた。

3. FDA 法とパドルオーバーディスク法による放出性の差

製剤 D-1 及び製剤 D-2 では、FDA 法と呼ばれているテフロンメッシュを時計皿に重ねてプラスチックのピンで止めた形のパーツをベッセル内に設置して、パドルで攪拌する方法が採用されている。そこで、使用するパーツの影響をみるため、パドルオーバーディスク法による試験を実施して結果を比較した。その結果、差は小さいが、やや FDA 法で放出率が大きくなる傾向が認められた。パドルの位置はいずれの場合も製剤の上 2.5cm に合わせており、試験結果に大きな差が生じるとは考えにくい。FDA 法における時計皿はかなり大きく、ベッセルの下部を覆う形となるため、ベッセル下部での試験液の攪拌が充分でない可能性が考えられ、やや放出率が大きめで推移するのではないかと

思われる。

4. 使用する膜特性の影響

製剤 B では、パドルオーバーディスク法に準じて四角の金属板を使用しているが、製剤の上に疎水性の膜をかぶせる方法となっている。同等性ガイドラインでは、膜を使用する場合には、膜透過が律速となつてはならないと規定している。そこで、使用する膜の影響を検討するため、同様の素材の親水性膜を用いて試験を行った。その結果、親水性膜を使用した場合には、疎水性膜を使用した場合よりもかなり放出が速くなり、膜透過が大きな影響を与えていることが明らかであった。

D. 考察

D-1 USP のプレドニゾンカリブレター錠について、脱気の変動を捉えうるかどうか検討したところ、劣悪な脱気条件での試験でも、カリブレター錠の規格範囲内に収まり、規格範囲が広すぎるために、装置校正用の標準として適切でない可能性が示唆された。

D-2 田中らは、今回の報告のベッセル A 程度のものと、ベッセル C 程度のものを用いて、プレドニゾン標準錠 (ただし Lot.O) の溶出試験を実施し、ゆがみの多いベッセルでは、値のばらつきが非常に大きくなると報告している (Dissolution Technologies, November, 17(2005))。しかし、本研究結果からは、装置のバリデーションが適格で、ベッセルの交換時のセンタリング等も適切に実施されていれば、ベッセルのゆがみはプレドニゾン標準錠の溶出性にほとんど影響を及ぼさないことが示唆された。

また、JP ベッセル使用時にはマウント形成する溶出試験条件でも、ピークベッセル使用時にはマウント形成を認めなかった。JP ベッセルでは、パドル軸の真下の堆積物は攪拌の影響を十分に受けないため、ベッセルの底に静置してマウントを形成する。一方、ピークベッセルでは、ピークがパドル軸の真下への堆積を阻害するため、製剤は崩壊後に十分に攪拌され、マウント形成しなかったと推測される。

製剤 a および b の溶出試験では、等量の薬物 A を含む同剤形の両製剤のうち、b だけにマウント形成が見られ、マウント形成は溶出する薬物の特性に依存せず、製剤特性に起因することが確認できた。製剤 a は JP ベッセルとピークベッセルのどちらの使用時にもほぼ同じ溶出挙動を示した。また、製剤 a と b はピークベッセル使用時にはほぼ同様の溶出挙動を示した。このように、溶出速度が十分に速い製剤の場合、JP ベッセルとピークベッセルは毎分 50 回転の条件で、ほぼ同様の溶出試験結果を得ることが可能であり、かつピークベッセルで再現性のある溶出試験が可能と思われる。このような場合には、ピークベッセルはマウント形成を防ぐ目的で、JP ベッセルの代替としての使用が期待できる。

D-3 ツロブテロール貼付剤は、テープ状の製剤で、試験液による形状の変化も小さいため、パッチ製剤よりも放出試験は容易であった。試験に使用するパーツの影響はほとんど受けないこと、膜を使用する場合には、疎水性膜の使用には膜透過が大きな要因とならないか注意する必要があると思われた。

今後 JP への取り込みに際しては、USP や EP が採用している、パドルオーバーディスク法に加え、皮膚適用製剤の大きなサイズのものそのまま貼り付けることができるシリンダー法の採用で充分であると思われた。さらに、現在は USP にも EP にも採用されていないが、USP Forum では、昨年、パッチ製剤以外の軟膏剤等への適用のために、拡散セル法が加えられた <724>Topical and Transdermal Drug Products が新たに提案されている。JP への皮膚適用製剤の放出試験法としては、拡散セル法を取り込んだ形で、三種類の方法を収載するのが適切であると考えられた。

E. 結論

溶出試験の校正に関して検討を行うとともに、溶出試験結果へのベッセルのゆがみの影響を検

討し、国内流通ベッセルは問題がないことを確認した。またマウントを形成する製剤についてはピークベッセルが有用であることを示した。次に経皮吸収製剤の放出試験を検討し、JP では USP や EP が採用しているパドルオーバーディスク法に加え、シリンダー法の採用で充分であると思われ、さらにパッチ製剤以外の軟膏剤等への適用のために拡散セル法を取り込むことが妥当と考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) C. Yomota, Y. Onishi, N. Determination of biotin following derivatization with 2-nitrophenylhydrazine by high-performance liquid chromatography with on-line UV detection and electrospray-ionization mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 1142, 231-235 (2007)
- 2) K. Izutsu, C. Yomota, N. Aoyagi. Inhibition of mannitol crystallization in frozen solutions by sodium phosphates and citrates. *Chem. Pharm. Bull.*, 55: 565-570 (2007)
- 3) N. Sugimoto, R. Koike, N. Furusho, M. Tanno, C. Yomota, K. Sato, T. Yamazaki, K. Tanamoto, Quantitative nuclear magnetic resonance spectroscopy determination of the oxyethylene group contents of polysorbates, *Food Add. Contam.*, 24, 799-806 (2007)
- 4) 四方田千佳子、保立仁美、伊豆津健一、青柳伸男、皮膚適用製剤の溶出試験に関する研究、*医薬品研究*、38、235-241 (2007)
- 5) 四方田千佳子、ジェネリック医薬品とは、*ファルマシア* 43、757-762 (2007)
- 6) 四方田千佳子、経口固形製剤の品質を巡る諸問題、*医薬品研究*、38、195-213 (2007)
- 7) 四方田千佳子、製剤変更時における生物学的同等性試験、生物学的同等性試験、生物学的同等性試験、pp.193-202 (2007) 情報機構、東京
- 8) K. Izutsu, S. Kadoya, C. Yomota, T. Kawanishi, E. Yonemochi, K. Terada, Freeze-drying of proteins in glass solids formed by basic amino acids and dicarboxylic acids. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 57, 43-48 (2009)
- 9) S. Kadoya, K. Izutsu, E. Yonemochi, K. Terada, C. Yomota, T. Kawanishi, Glass-state amorphous salt solids formed by freeze-drying

of amines and hydroxy carboxylic acids: effect of hydrogen-bonding and electrostatic interactions.

Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 56, 821-826 (2008)

- 10) 四方田千佳子、保立仁美、伊豆津健一、川西徹、皮膚適用製剤の溶出試験に関する研究(2)、医薬品研究、39、436-441(2008)
- 11) 柘植秀哉、大内 正、中島辰巳、青木光夫、大久保恒夫、四方田千佳子、浸透圧測定法による機種間差による研究(第1報)、医薬品研究、39、251-264(2008)
- 12) 伊豆津健一、四方田千佳子、川西徹、角谷沙織、米持悦生、寺田勝英、カルボン酸塩の凍結乾燥によるガラス固体化と水素結合の寄与、低温生物工学会誌 54(2): 33-37 (2008)
- 13) 保母敏行他、日本分析化学会における標準物質の開発、分析化学、57、363-392(2008)
- 14) 四方田千佳子他、高分子分析ハンドブック、日本分析化学会高分子分析研究懇談会編集、pp.672-674、p.678(2008)朝倉書店、東京
- 15) H. Shibata, H. Saito, C. Yomota, T. Kawanishi, Pharmaceutical quality evaluation of lipid emulsions containing PGE1: alteration in the number of large particles in infusion solutions. *Int J Pharm.* 378: 167-176 (2009)
- 16) C. K. Brown, L. Buhse, H. Friedel, S. Keitel, J. Kraemer, M. Morris, M. Stickelmeyer, C. Yomota and V. P. Shah, FIP Position Paper on Qualification of Paddle and Basket Dissolution Apparatus, *AAPS Pharm Sci Tech.* 10:924-927 (2009)
- 17) Shibata, H., Saito, H., Yomota, C., Kawanishi, T., Ammonium ion level in serum affects doxorubicin release from liposomes. *Die PHARMAZIE*, in press.
- 18) K. Izutsu, Y. Hiyama, C. Yomota, T. Kawanishi, Near-infrared analysis of hydrogen-bonding in glass- and rubber-state amorphous saccharide solids. *AAPS PharmSciTech*, 10: 524-9 (2009)
- 19) K. Izutsu, S. Kadoya, C. Yomota, T. Kawanishi, E. Yonemochi, K. Terada, Stabilization of protein structure in freeze-dried amorphous organic acid buffer salts. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 57: 1231-6 (2009)
- 20) S. Kadoya, K. Fujii, K. Izutsu, E. Yonemochi, K. Terada, C. Yomota, T. Kawanishi, Freeze-drying of proteins with glass-forming oligosaccharide -derived sugar alcohols. *International Journal of Pharmaceutics*, 389: 107-113 (2010)
- 21) K. Izutsu, K. Fujii, C. Katori, C. Yomota, T. Kawanishi, Y. Yoshihashi, E. Yonemochi, K. Terada, Effects of solute miscibility on the micro- and macroscopic structural integrity of freeze-dried solids. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Accepted
- 22) 四方田千佳子、溶出試験－医薬品製剤の品質保証ツール－、ファルマシア、1201-1206、45(2009)
- 23) 柘植秀哉、大内 正、中島辰巳、青木光夫、大久保恒夫、四方田千佳子、浸透圧測定法による機種間差による研究(第2報)、医薬品研究、40、136-142 (2009)
- 24) 柘植秀哉、大内 正、中島辰巳、青木光夫、大久保恒夫、四方田千佳子、浸透圧測定法による機種間差による研究(第3報)、医薬品研究、40、505-519 (2009)
- 25) 田邊豊重、高居邦弘、青木光夫、大久保恒夫、大内 正、寺田三郎、柘植秀哉、四方田千佳子、輸液用ゴム栓試験法の見直し研究(第1報)、医薬品研究、41、221-239 (2010)
- 26) 四方田千佳子、ジェネック医薬品の情報、データ、品質に関する留意点、“最新ジェネリック医薬品戦略”、p181-192(2009)、情報機構、東京

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし