

間（リテスト期間）、製造所が製造承認申請書に記載され、承認事項の対象となる。表2・1および表2・2（p.20）において、太字で示した箇所がわが国で承認申請事項の対象となりうる事項である。

このなかで、製造方法に関する記載は薬事法の改正に伴って大きく変更された箇所である。本項では製造方法の記載を中心に解説する。

#### i) 原 薬

出発物質から原薬の一次包装工程までの全工程を工程に従い記載する。ただし、二次包装が安定性確保などの機能をもつ場合は二次包装も含める。申請者は原薬の品質確保に必要な工程から記載する。出発物質は原薬の構造中の重要な構成部分として組込まれる原料、中間体、原薬であり、通常、化学的性質および構造を明確にされているものを選択する（市販品の場合、委託または販売契約の下で供給者から購入する場合または自社で製造する場合がある）。記載は、製造工程の流れに従い、CTD-Qに示されている事項から適切な事項を選択し記述する。重要工程に関しては、工程が管理されていることを保証するために実施される管理手法（プロセス管理値、判定基準、概略の試験方法など）を記載する。

#### ii) 製 剤

原材料から製剤の包装・表示工程までの全工程を工程に従い記載する。記載は、製造工程の流れに従い、CTD-Qに示されている事項から適切な事項を選択し記述する。重要工程に関しては、工程が管理されていることを保証するために実施される管理手法（プロセス管理値、判定基準、概略の試験方法など）を記載する。

#### iii) 重要工程の例

重要工程として“改正薬事法に基づく医薬品等の製造販売承認申請書記載事項に関する指針について”（2005年2月10日薬食審査発第0210001号）では原薬の場合では、

- ・多成分の混合
- ・相の変換や分離工程（濃縮、汙過）
- ・温度およびpHの制御が重要である工程
- ・分子構造の本質的な構成要素が形成される工程および主要な化学変換を生じる中間工程
- ・重要な不純物が生じるあるいは重要な不純物を原薬から除去する工程
- ・光学活性医薬品製造で、光学純度が決定する工程
- ・最終精製工程

製剤の場合には、

- ・低含量固形製剤の混合工程，造粒工程，整粒工程，輸送工程および打錠工程
- ・固形製剤の溶出特性を決める工程
- ・製造スケールが製品規格に影響を及ぼす工程．混合工程，造粒工程，薬液調製工程，汙過工程，凍結乾燥工程，最終滅菌工程など
- ・無菌操作を用いる製造法における，バイオバーデンを決める原材料管理，プロセスフィルター管理など
- ・分解物が生じる可能性のある工程．固形製剤における造粒工程，乾燥工程，注射剤における薬液調製工程，最終滅菌工程など
- ・製品の安定性に影響を与える工程．乾燥工程などの製造工程，一次包装工程が例示されている。

#### iv) 承認事項一部変更対象事項と軽微変更対象事項

改正薬事法により軽微変更届出の制度が設けられ，軽微変更対象事項に関しては，変更するために事前の承認を要せず，届出のみでよいとすることとなった。

新たな制度の下では申請者は，承認事項一部変更申請（一変）対象事項と軽微変更対象事項とに切分けて，申請時に申請する．何を軽微変更対象事項とするかは，医薬品の特性や製造方法によってケースバイケースで異なるので，申請者が審査当局に軽微変更届出対象事項とする妥当性を説明すべきである。

一方，上記通知では原薬に関しては，以下の事項が一変対象事項として例示されており，

- ・反応工程（出発物質，中間体）の変更
- ・最終中間体以降における工程操作の概略と用いる原材料などの変更
- ・重要工程である場合には，工程操作の概略と用いる原材料などの変更
- ・原薬の出荷試験の一部として重要中間体または重要工程の試験が実施される場合の試験方法および判定基準に関する情報の変更
- ・出発物質，重要中間体，原材料の管理基準および管理方法のうち，特別な管理が必要な事項の変更（たとえば無菌原薬の製造にかかわる事項の変更）
- ・最終工程，重要工程のパラメーターとそれらの工程が管理されていることを保証する試験方法と判定基準のうち，特別な管理が必要な事項の変更（たとえば無菌原薬の製造にかかわる事項の変更）
- ・機器のうち，特別な管理が必要なものの変更
- ・最終精製工程に使用される溶媒で，特に原薬に影響を与える可能性が大きい場合にあっては管理基準の変更
- ・その他特別な管理を要する事項の変更

製剤に関しては一変対象事項として以下の事項が例示されている。

- ・重要工程の操作原理およびその工程の品質終点基準としての工程管理基準の変更
- ・製品の品質に影響を与える包装材料の材料名の変更
- ・製品の出荷試験の一部として中間製品または重要工程の試験が実施される場合の試験方法および判定基準に関する情報の変更
- ・原材料の品質および管理方法のうち、無菌製造にかかわる事項、徐放性製剤における機能性添加剤など特別な管理が必要な事項の変更
- ・重要工程のパラメーターとそれらの工程が管理されていることを保証する試験方法と判定基準のうち、特別な管理が必要な事項や無菌製造にかかわる事項等の変更など

原薬の場合では、変更することによって化学物質の本質が変化する危険性が大きい工程（たとえば反応工程の変更や、重要工程の場合の原理等の変更など）は一変対象事項である。また、製剤の場合は、基本的には承認規格項目に代表される品質基準項目に直接影響を与える工程を重要工程とし、それらの工程の“品質終点基準”、品質終点基準を満たすための管理手法（運転パラメーター）まで含め承認書に記載すべき事項と考えるべきである。重要工程単位操作の原理、品質終点基準としての工程管理基準の変更は一部変更承認申請対象事項であり、一方、品質終点基準を管理するための運転条件などは軽微変更届出対象事項と考えることができる。

#### v) 目標値/設定値

操作条件や標準的仕込量は目標値/設定値として承認申請が可能である。目標値/設定値として1点の値を申請した場合には、その値の許容範囲（あるいは管理範囲）を開発段階の検討や経験、バリデーシヨンの結果を参考に、製造実績に基づき、製品標準書などに設定する必要がある。ただし、当該パラメーターがパラメトリックリリースとして利用するために設定される場合や品質に重大な影響を与えるパラメーターの場合には許容範囲を承認申請書に明示する必要があり、目標値/設定値とすることはできない。この場合にあつては、承認申請書に記載されたパラメーターの範囲を逸脱することは認められない。

## 2・5 おわりに

紙面の制約で分析法のバリデーシヨンやシステムの適合性の評価ならびに変更管理と生物学的同等性の評価に関しては、重要な項目であるにもかかわらず取扱うことができなかつた。分析法バリデーシヨンやシステム適合性に関しては成書<sup>1)</sup>に

鹿庭，森田，小嶋らがそれぞれ解説を行っているので参考にさせていただきたい。

製剤の処方変更時などの同等性評価に関しては以下のガイドライン（案も含む）が厚生労働省より発出されており，国立医薬品食品衛生研究所薬品部のホームページで読むことができる。

- ・局所皮膚適用製剤の剤形追加のための生物学的同等性試験ガイドライン
- ・後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドライン
- ・含量が異なる経口固形製剤の生物学的同等性試験ガイドライン
- ・経口固形製剤の処方変更の生物学的同等性試験ガイドライン
- ・局所皮膚適用製剤の後発医薬品のための生物学的同等性試験ガイドライン
- ・経口固形製剤（通常製剤，腸溶性製剤）の製法変更の生物学的同等性試験ガイドライン案
- ・経口固形製剤（徐放性製剤）の製法変更の生物学的同等性試験ガイドライン案
- ・徐放性製剤（経口投与製剤）の設計及び評価に関するガイドライン

#### 参 考 文 献

- 1) “医薬品の品質確保 増補改訂 2006”，奥田晴宏，清原孝雄，小嶋茂雄編，エル・アイ・シー（2006）。

# ICH Q トリオの実践・運用に際し留意すべき点

国立医薬品食品衛生研究所 檜山 行雄

本稿では、医薬品規制調和国際会議 (ICH : International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceutical for Human Use) により近年発効された製剤開発 (Q8)、品質リスクマネジメント (Q9)、医薬品品質システム (Q10) の各ガイドラインの作成の背景、主論点の概説、及び3つのガイドライン (通称Qトリオ) の実践するための留意点を述べる。示された意見は筆者所属団体のものではなく、個人のものであることをご了承いただきたい。

Qトリオが描く、科学とリスクマネジメントの基づく医薬品の品質 (マネジメント) システムは医薬品 (原薬、製剤) の開発、生産、流通全体に適用すべきものとしてICHの専門家は願いながら作成したものである。端的に言えば、新薬だけに適用を限るのではなく、後発 (ジェネリック) 医薬品はもとより、既存製品すべてへの適用を薦めている。欧州においては、医薬品すべてに適用する方向で規則が構築されつつある。このような方向を進めるためには行政、企業ともに相当な努力が必要である。

## 1. ICH Q トリオ作成の背景

『医薬品開発の中心となっている日本、米国、欧州の3つの地域 (3極) 間での新規医薬品の審査の基準の違いが障害になっている。』との認識から3極の行政 (日本 : 厚生労働省、米国 : 食品医薬品庁 (FDA)、EU : 欧州委員会 (EC))、企業 (日本 : 日本製薬工業協会 (JPMA)、米国 : 米国研究製薬工業協会 (PhRMA)、EU : 欧州製薬団体連合会 (EFPIA)) の6者が集まり、提出データの国際調和を進めるためICHが1990年に組織された<sup>1)</sup>。これまでに、有効性 (E : Efficacy)、安全性 (S : Safety)、品質 (Q : Quality) の3分野を中心に60以上のガイドラインが作成され国際調和に大きな貢献をしてきた。

2003年7月にGMP (Good Manufacturing Practices) ワークショップが開催され、今後、国際調和ガイドラインとして何が必要であるのかが議論された。“科学とリスクマネジメントに基づいた医薬品のライフサイクル (開発から市販後) 全般に適用可能な調和された品質保証体系 : A harmonised pharmaceutical quality system applicable across the lifecycle of the product emphasizing an integrated approach to risk management and science” とのビジョンを採択した。これにより、品質システムの基礎となる製剤開発 (Q8 : Pharmaceutical

Development)と品質リスクマネジメント(Q9: Quality Risk Management)をとりあげること  
を合意し、段階的にビジョン達成をめざした。2年をかけQ8, Q9ガイドラインが作成され、  
我が国では2006年9月に厚生労働省より通知された。この後、医薬品品質システム(Q10)ガ  
イドラインが2008年6月に、Q8の補遺Q8R1が2008年11月に最終合意され、現在、各極内  
における通知の準備が行われている。

2007年半ばには個別のガイドラインを発行するだけでは、ICHが目指すビジョンへ対す  
る理解は得られないという認識が大勢をしめ、ICHではQ8, Q9, Q10の導入・実践を進める  
ためにImplementation Working Group (IWG)が編成された。Quality by Design (Enhanced  
approach), Quality System/Inspection, Knowledge Managementをテーマに選び、それぞれ  
アメリカ、欧州、日本がQ&A素案作成を担当した。合計40を超えるQ&Aが2009年7月には  
発行された。Qトリオ及びQ&Aに基づく、ICH主催の教育ワークショップが2010年には欧  
米、日の順で開催される予定である。

## 2. Qトリオガイドラインの概略

ICH Q8(製剤開発)ガイドラインの構成は目的、適用範囲、製剤成分、製剤、製造工程の開  
発経緯、容器及び施栓系、微生物学的観点から見た特徴、溶解液や使用時の容器/用具との適  
合性、及び用語となっている。

製剤開発研究とは『適正な品質を有する製品を設計すること』および『意図した機能を有する  
製品を一貫して供給できる製造工程を設計すること』と規定している。新薬申請資料の『製剤  
開発の経緯』の項にどのような記載をするかを示すことであるが、GMP査察官に対する情報  
提供も目的とした。

科学的手法と品質リスクマネジメントの適用を強く推奨し、『製剤開発研究や製造経験を通  
して得られた情報や知識により科学的理解が深まり、これがデザインスペース、規格、及び製  
造管理の確立に役立つ』、『意図した品質の製品を確実に生産する工程の能力に関する評価結果  
をこの項に示すことができる。工程の頑健性に対する理解があれば、リスク評価とリスク低減  
に有用であり、将来の製造と工程の改善、特にリスクマネジメント手法を用いた改善に役立  
てることができる。』という記載がある。

製剤研究のあり方として最低限記載が必要な事項と追加的(任意)事項と分け、示されてい  
る。前者として『原薬、添加剤、容器及び施栓系、製造工程に関わる性質のうち製品の品質に  
とって重要なものを特定し、それらを管理する戦略の妥当性を示す。一般に、どの製剤処方  
の特性と工程パラメータが重要であるかは、その変動が製剤の品質に及ぼし得る影響の程度を評

価して特定する。』ことが期待されている。一方、後者は『原料特性、代替の操作、製造工程パラメータなどの製品性能に関する知識をより広い範囲にわたってさらに深めるための研究。実験計画法：Process analytical Technology；品質リスクマネジメントの適用；デザインスペースの拡大など、高度な科学的理解の提示。』である。追加的事項も示した場合には『弾力的な規制』が可能となるとしている。これには、リスクに基づいた規制当局の判断（審査及び査察）、追加の審査を受けることなく、承認書に記載されたデザインスペース内で製造工程を改善すること、承認後申請の低減、最終の製品出荷試験（実施）の減少につながる「リアルタイム」の品質管理を挙げている。

『製品の品質は、製造工程で造り込まれるものであって、試験（Quality by Testing）によって造られるものではない。』という考え方を強く推進している。又、『デザインスペース』は品質を確保することが立証されている入力変数（原料の性質など）と工程パラメータの多元的な組み合わせと相互作用と定義され、このデザインスペース内で変更することは、行政手続き上では、変更とはみなされない。

ICH Q9品質リスクマネジメントガイドラインの構成は序文、適用範囲、原則、一般的なプロセス、リスクマネジメントの手法、医薬品業界及び規制当局における活動への統合、定義、参考文献である。リスクの定義として『危害の発生の確率とそれが発生したときの重大性の組み合わせ』を採用し、危害の定義を『健康への被害。製品品質の不良又は安定供給の欠如による被害を含む。』とし製品の供給欠如も含めている。

適用範囲としては開発、製造、配送、査察、承認申請／審査といったライフサイクルにわたる医薬品品質のあらゆる側面とされている。

品質リスクマネジメントの原則としては、品質に対するリスクの評価は科学的知見に基づき、かつ最終的に患者保護に帰結すること及びリスクマネジメントの過程における資源配分はリスクの程度に相応するべきであることの二つが挙げられている。

Q9の作成過程において、本文によるプロセスなどの説明と付属書の説明だけでは、具体的にどのように使って良いかわからないとの意見が多く寄せられた。これに 대응するためQ9のメンバー有志は400枚を超える教育スライドを作成し、日本語訳も含めICHのホームページに掲載した<sup>2)</sup>。又、ガイドラインの作成の過程については文献<sup>3)</sup>を参照されたい。

医薬品品質保証領域において企業、行政を問わず、リスクマネジメントの概念・手法が今後有効に使われ、他の品質関連のガイドラインあるいは行政方針の基礎となるような重要ガイドラインとなることが期待される。

ICH Q10医薬品品質システムガイドラインは、医薬品品質システムとは「品質に係わる事項について製薬企業を指揮管理するマネジメントシステム」であり、医薬品品質システムの一つ

のモデルを示している。端的に言えば、医薬品の製品研究開発から製造・品質管理全般を包括管理し、継続的改善を推進するためのガイドラインである。又、GMPには包含されていない経営者の責任、製品開発（製剤：ICH Q8、原薬：ICH Q11）と生産工場間の技術移転、知識の共有などが内容となっている。

第一章は適用範囲を規定し、手法として知識管理並びに品質リスクマネジメントを示し、品質システムを構築する上での考慮点を列挙し、品質システムモデルの全体像を示している。これに続き、経営陣の責任、プロセス稼働性能及び製品品質の継続的改善、医薬品品質システムの継続的改善と続く構成としている。又、「科学及びリスクに基づく薬事上のアプローチを向上させる今後見込まれる機会」が付属書1に示されている。

### 3. Qトリオの実践導入に際しての留意点

Q8には製剤開発が科学とリスクマネジメントに基づき行われるべきことと製剤開発によって得られた知識がその他の領域のリスクマネジメントの基礎となることが強調されている。一方、Q9には製剤開発はリスクマネジメントの適用領域とされ、適用機会として、安定生産のための製剤設計及び製造工程設計過程全体、幅広い物質物性に関する化合物特性解析、適切な規格や製造管理法の確立、品質特性の変動の抑制/スケールアップや技術移転時に関連して必要な追加検討項目の評価などが例示されている。Q8本文に示された理念の明確な説明の記載を望む声が強く補遺としてのQ8R1が作成され、2008年11月には最終合意された。その中では製剤の品質に大きく影響を与える「重要品質特性 (CQA : critical quality attribute)」の特定が要求され、特にCQAと製造工程との関係の理解を進めることが強く推奨されている。又、製剤開発の知識をもとに、リスクマネジメントを有効に使いながら、製造管理及び品質管理の組み合わせである「管理戦略」を設定することが期待されている。このように製剤・製造プロセス開発はリスクマネジメントの適用が強く推奨される領域である。厚生労働科学研究により作成された製剤開発申請資料(サクラ錠モック)には、製剤開発及び製造工程開発の流れに沿い、開発当初、製剤開発、製造工程開発、及び管理戦略設定後の各段階においてリスクアセスメントが行われた事例が記載されている<sup>4)</sup>。開発の流れは個々により異なるものの、段階ごとにリスクアセスメントを行い、重要度の優先順をつけ、問題の整理をしながら開発を行うことにより、開発そのものの信頼度を向上させるとともに、より客観性をもって他者に説明することが可能となる。審査というものはそもそも、企業の提案に対して審査当局が独立したリスクアセスメントを行うことであろう。審査側における経験・知識は一つの企業内におけるそれよりも一般に広いものと期待される。CTDのP2項(製剤開発の経緯)は製品設計・製造プロセ



ス設計におけるリスクアセスメント及び製造におけるリスクコントロールの重要点を示し、企業と行政のリスクコミュニケーションの重要な手段となるべきものである。

Q8が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という原則を明確に示したことは大きな意義がある。この原則に沿い、承認後の変更手続きにリスクの程度によりメリハリがつくようにICHの各極において制度改革が行われている。これらの制度改革を進めるためには、企業・行政双方が科学的知識の向上に努め、リスクマネジメントの基本をしっかりと理解していくことが必須であろうと考える。

Q10の序文には「ICH Q10は、公衆衛生の利益のために、世界中で医薬品の品質及び安定供給を強化する実効的な医薬品品質システムに対する、企業及び規制当局の支持を具体的に示している。製品ライフサイクルの全期間にわたりICH Q10を実施することは、イノベーションと継続的改善を促進し、医薬品開発と製造活動の連携を強化するものでなければならない。」とあるように、企業のみならず行政への高い期待を示している。「ICH Q10は現行の規制要件を超えて新たな期待を創出する意図はない。従って、現行のGMP要件に付加的なICH Q10の内容は任意である。」との原則がある。ガイドラインとして、現行の規制に加えた規制を創出する意図は無いことは確かであるものの、我が国においては製薬企業、つまり製造販売業者に対する品質管理基準(GQP)が法的な要件となっているためQ10の内容の多くが日本においては、すでに法的な期待となっていることを認識しておく必要がある。医薬品品質システムガイドラインは、2003年のGMPワークショップ以来、「製造科学について深い理解が示された場合の柔軟な規制」の受け皿として期待されてきた。それに加え、昨今のグリセリン、ヘパリン問題から、サプライチェーンの強化へと関心がシフトした。その結果、ガイドライン作成の最終段階において、経営陣の責任に「医薬品品質システムは、本章で記述されている経営陣の責任も含め、いかなる外部委託作業及び購入資材の質の監督及びレビューにまで及ぶ。製薬企業は、外部委託作業及び購入資材の質の監督を保証するためのプロセスが実施されていることを確実にし、最終的な責任を負う。」という記載が追加・拡充されたことは特記に値する。

このように3つのガイドラインは、企業へ対しては「科学」と「リスクマネジメント」に根ざした努力を促し、それに呼応し、行政の係わりを弾力的に行える体制を構築していくことを推奨している。

事例として、厚生労働科学研究により作成された製剤開発申請資料モック<sup>4)</sup>を参照しながらリアルタイムの品質管理の意義を考察してみる。このモックでは、リアルタイムの品質管理が溶出性、含量均一性、含量に対して適用され、最終の品質試験を実行することなく、製造工程内で得られるリアルタイムの品質管理のデータに基づき、出荷の判断が行われるリアルタイムリリースが採用されている。

リアルタイムの品質管理を行うためには、製品の規格の項目に対して、どのような(中間製品の)品質特性が寄与しているかの理解と、それらを製造工程中においてリアルタイムに評価できること、さらに、工程条件の調整により品質特性が管理できることが条件となる。例えば、モックの溶出性については、原薬の粒子径、滑沢剤の比表面積及び量、滑沢剤混合時間、打錠圧により溶出率が決まることが製剤・プロセス開発により把握できている。それぞれのデータに基づき溶出率を算出し、溶出試験は通常実施しない管理戦略、すなわちリアルタイムリリースを選択している。このように製剤・プロセスの理解が進んだ場合でも、IWGのQ&Aにもあるように、リアルタイムリリースを採用しない伝統的な管理戦略でも勿論かまわない。

リアルタイムの品質管理、つまり工程運転中に連続的に工程の進行を評価し続けることの重要な意義は、品質管理のレベル向上と製造の実績データを積み上げによる、将来の工程の変更・改善を容易にすることにあると考えられる。Q8にはリアルタイムの品質管理は「出荷試験の(実施)の減少につながる」という記述がある一方で、用語欄には「連続的工程モニター」はプロセスバリデーションの革新的アプローチを可能にするとの記述もある。リアルタイムの品質管理はいままでのバリデーションのパラダイム、つまり「研究開発データに基づき、工程パラメーターを決め、工程が安定していることを仮定し運転をする。」というアプローチを大きく変えていく可能性を秘めているものとする。

さて、各ガイドラインに関する議論には、誇張気味ではあるが、以下のような印象を持っている。

- 1) Q8ガイドラインに関連しては、デザインスペースをどのように承認書の製造法欄に書き込むのかといった薬事上の議論が活発に行われた。その一方、Q8が強く求める基本的な製剤開発に係わる議論は影に隠れている。
- 2) Q9については、リスクアセスメントの手法の使用方法についての質問が多くICHメンバーに多く寄せられる一方、リスクマネジメントのプロセスをどのように導入すべきかといった本質的な議論はあまり広がっていない。
- 3) Q10に関しては、「GMPとの違いが良くわからない」、「新薬メーカー以外は考慮しなくて良いガイドラインではないか」などガイドラインの内容・意義の理解が進んでいない。

このような印象は個別の狭い領域における対応に追われた結果からくるものと思われる。Qトリオの各ガイドラインは単独で導入するものではなく、ICHのビジョン達成のため、総合的に実践導入すべきものである。

本稿ではICH Q8, Q9, Q10の主論点及び導入に際する課題を事例紹介を交えながら紹介した。各ガイドライン全体を読み通した後に、担当されている仕事・専門を通じ多少距離を置いて読み込んでいただくと、より良く理解していただけるものと思われる。

## 参 考 文 献

- 1) ICHのホームページは <http://www.ich.org/>、日本におけるICHのホームページは [http://www.pmda.go.jp/ich/ich\\_index.html](http://www.pmda.go.jp/ich/ich_index.html) で英文ガイドラインとともに日本語訳が掲載されている。
- 2) 参考文献1)のQ9の項目参照。
- 3) 檜山行雄 ICH Q9品質リスクマネジメント－議論経過の解説－, PDA Journal of GMP and Validation in Japan, 8, 39-46 (2006)。
- 4) 平成19年度厚生労働科学研究：「医薬品製造開発・承認審査の确实かつ効率的なプロセス構築に関する研究 (H18－医薬－一般－003)」の分担研究報告書「原薬・製剤開発研究に基づいた製造・品質管理手法の研究－重要工程におけるデザインスペース及びControl StrategyとしてのReal Time Release等の研究－」 <http://www.nihs.go.jp/drug/DrugDiv-J.html> にて報告書を公開。

## 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. はじめに

Q8(R1)「製剤開発（補遺）」については、2003年2月の舞浜会議でその作成の必要性が議論されました。その後、Table 1に示す経過を経て、Q8ガイドライン本体がStep 2に達した時点で、本体ガイドラインで取り扱えなかった内容を補遺として、約3年半を要してQ8(R1)にまとめました（Table 1）。

2003年のブラッセル会議では、Table 2に示すビジョンが採択されました。すなわち、科学とリスク管理に基づいた、医薬品ライフサイクル（開発から市販後）の全般に適用可能な調和された品質システムを構築するというビジョンです。このビジョンに従い、Q8からQ10までのガイドラインが作成され、現在、Q11、原薬の開発と製造のガイドラインの作成が開始されています。

Q8(R1)のガイドラインの本論はTable 3に示すように、製剤開発の一般原則やリアルタイムリリースの新しい概念などが論じられています。補遺には、製剤開発のアプローチと、製剤開発の要素である重要品質特性とデザインスペースの技術的側面、管理戦略などが記載されました。

Q8補遺を取りまとめる段階では、Q6Aで扱う錠剤、注射剤、経口製剤について、製剤開発の方法をMinimumとEnhancedの両方で記載しようと試みられましたが、合意できませんでした。最終的に、Enhancedアプローチに焦点を絞り、その説明に重点をおいた補遺にまとめられました。

Step 2ドキュメントに対して各極はコメントを提出し、日本は翻訳に関する事項と内容の明確化を求

めるコメントを提出しました。より詳細な事例をQ8(R1)に求めるコメントも寄せられましたが、ICHの活動には、品質関連トピック（Q8、Q9、Q10）の運用を促進する実施作業部会のQ-IWGというグループがあり、事例を増やす作業はQ-IWGに委ね、ここで最終的な合意に達すれば、より明快な説明ができるだろうという判断になりました（Table 4）。

## 2. Q8(R1) ガイドライン補遺（Table 5）

## 2.1 製剤開発のアプローチ（Table 6）

Q8(R1) ガイドライン補遺は4項目で構成されています。

緒言の製剤開発のアプローチでは、「at Minimum」で進めるための最低限の要素を取り上げています。まず品質標的製品プロファイルを明確化し、次に重要品質特性を特定することで、製剤の品質に影響を及ぼす製剤特性の研究や管理をスタートすることができるとの考え方です。

次に原薬や添加剤の重要品質特性を特定し、これら添加剤の種類と量を選択します。更に、製造工程を適切に選択し、最終的には管理戦略を明確化することが、at Minimumとしての製剤開発に期待されている内容です。

一方、「Enhanced」な進め方では方法と工程を理解し、把握した上で、より洗練していくという体系的な評価作業を行うことを求められています。その中には、製剤のCQA（重要品質特性）に影響を及ぼす原材料の特性と工程パラメータの特定、更に原材料特性及び工程パラメータと製剤のCQAを関連づける機能的関係の特定といったような高度な段階が

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

\*\* 当協会主催の第19回ICH即時報告会（平成20年12月16日：東京）における講演による。

Table 1 EWG活動記録

2003年2月 舞浜：製剤開発のトピック化へ合意
2003年7月 ブラッセル：GMP ワークショップ
2003年11月 大阪：Q8 EWG 検討開始
2004年11月 横浜：Q8 Step 2
2005年5月 ブラッセル：Q8(R1) EWG 検討開始
2005年11月 シカゴ：Q8 Step 4 達成
2007年11月 横浜：Q8(R1) Step2
2008年11月 ブラッセル：Q8(R1) Step4

Table 2 ブラッセル会議（2003年7月）  
GMPワークショップで採択されたビジョン

- 科学とリスク管理に基づく医薬品のライフサイクル（開発から市販後）全般に適用可能な調和された品質システム
- Q8：製剤開発（Step 5）
- Q8(R1)：製剤開発補遺（Step 4）
- Q9：品質リスクマネジメント（Step 5）
- Q10：医薬品品質システム（Step 4）
- Q11：原薬の開発と製造（Step 1）

Table 3 Q8(R1)ガイドラインの構成

- Q8 本論（Step 5）
  - 製剤開発の一般原則
  - 新規概念（リアルタイムリリース）
  - 規制の弾力的運用
- Q8 補遺（Step 4）
  - 製剤開発のアプローチ
    - Minimal and Enhanced Approaches
  - 製剤開発の要素の詳細
    - 重要品質特性；デザインスペース；管理戦略

入ります。また、より深く工程を理解し、品質リスクマネジメントを活用することを推奨しています。工程理解の活用には、デザインスペースやリアルタイムリリース試験の提案が含まれています。これらの作業によって、製品ライフサイクルの全期間を通じた継続的な改善と、イノベーションが推進されるということが論じられています。

ここで強調したいのは、at Minimum と Enhanced という形で対極的な分け方をしましたが、会議では、別の観点から議論をしました。まず、どのような開発アプローチを取っても、その製剤が患者さんのニーズや、意図する製剤機能を満たすように設計されている必要があるということです。しかし、そこに

Table 4 Step 2文書に対する各極のコメント

- わが国からのコメント
- 内容の明確化を求める事項（例）
    - デザインスペースの設定の実例（多変量解析モデル）
    - デザインスペースとスケール
    - リアルタイムリリースと規格
    - デザインスペースと proven acceptable ranges の関係
  - 翻訳に関する事項

各極のコメントに対するラポータ見解

- Most of the comments/new proposals received from MHLW, FDA, EU and HC were mainly editorial and have been incorporated directly in the guideline (draft step 4, version 1).
- 議論のポイント
  - 付表1：実際の製剤開発との乖離
  - リアルタイムリリースと最終製品の規格試験方法
  - デザインスペースの維持管理
  - 記載場所

達するための手法は、これでなければいけないと決まっているものではありません。

開発の要素としては、デザインスペースやリアルタイムリリースが含まれているが、これがなければ Enhanced approach ではないということではありません。すなわち、工程の理解に必須ではないということです。現在、大方の製薬企業の開発のアプローチは、Enhanced と at Minimum の開発アプローチの間に位置するものと考えています。

## 2.2 製剤の研究開発は

Q8 が推奨している研究開発は、いわゆる QbD (Quality by Design) と呼ばれるコンセプトです。QbD についてこのガイドラインでは、「事前の目標設定に始まり、製品及び工程の理解並びに工程管理に重点を置いた、確立された科学及び品質リスクマネジメントに基づく体系的な開発アプローチ」と定義して、Q8 の補遺に収載しました。

そして、Q8 の補遺の中では「製剤開発に対するより体系的なアプローチ (QbD とも定義される) には、例えば、これまでの知識の利用、実験計画法、品質リスクマネジメント活用、製品ライフサイクルの全期間を通じた製品知識管理の利用といったもの

が、その要素として含まれる（ICH Q10 参照）」と記述されています。

補遺の冒頭にある品質標的製品プロファイルとは、Table 7 で示すように、製剤の品質特性について将来を見越した要約と定義されています。例えば、投与ルートや投与形態といったベーシックな事項から市販製剤に求められる品質基準のような事項までがこの製品プロファイルに入ります。

製品プロファイルを特定した後、重要品質特性（CQA）を検討します（Table 8）。この定義は「望ましい製品の品質を保証するために、適切な境界、範囲、分布内になければならない物理的、化学的、生物学的、微生物学的特性又は性質」です。

ガイドラインでは、CQA の前に、潜在的な製剤の CQA を考えると述べています。すなわち、品質標的製品プロファイル、又はこれまでの会社の知識から推定される製剤の性質を考え、次にポテンシャルな CQA リストができ上がります。製剤研究が進むにつれてリストは修正され、しぼりこまれますが、品質リスクマネジメントは、この潜在的な CQA の

順序づけに非常に有用になります。

### 2.3 デザインスペース

Q8 で新たに提唱されたデザインスペース（DS）は、補遺でも同様に採用されました。親ガイドラインで述べられている DS の定義を Table 9 に示します。

開発ステージのライフサイクルマネジメントとも関わりますが、デザインスペースそのものも、製品が市場に出た後も維持・管理していく必要が生じる場合があります。

特に数理モデルを活用したデザインスペースの場合には、そのモデルが機能することを保証するために定期的な維持管理が有効との記載があります。その維持管理は企業自身の品質システムの範囲で行い、特に規制はありません。ただし、Table 10 に示すように、結果としてデザインスペースそのものを修正・変更する場合には、各地域の要求事項に従って変更をしなくてはなりませんから、ある程度の規制はかかります。

更に、デザインスペースと、従来使用されればし製剤開発研究で明らかにされている「立証された許容範囲（PAR）」との関係について論じています。

Table 7 品質標的製品プロファイル

- 標的製品プロフィール（Step 2）
- 定義：安全性及び有効性を考慮し、望ましい品質を保証するため理論的に到達すべき製剤の品質特性についての先を見越した要約である。
- この品質標的製品プロファイルが製剤開発の設計の基盤となる。

Table 8 重要品質特性（CQA）

- 定義：望ましい製品の品質を保証するために、適切な境界、範囲、分布内になければならない物理的、化学的、生物学的、微生物学的特性又は性質
- 一般に、原薬、添加剤、中間体、製剤に関連
- 品質標的製品プロファイル及び／又は従前に得られている知識から導かれる潜在的な製剤の CQA は、製品やプロセスの開発のガイドとして使用される。
- 潜在的 CQA のリストは、製剤処方及び製造工程が選択され、製品知識が増し、工程理解が深まるにつれ修正されるであろう。
- 品質リスクマネジメントは潜在的 CQA の順序づけに用いることが出来る。

Table 9 デザインスペース（親ガイドライン）

- 品質が保証されることが実証された原薬・添加剤の特性と工程パラメータの多次元的な組合せ・相互関係
- このスペース内で操作することは、一般的には、変更とは見なされない。
- スペース外への移動は変更とみなされ、通常は承認後変更申請が必要
- 申請者により提示、規制当局が評価・承認

Table 10 デザインスペースの維持管理

- 数理モデルを活用したデザインスペースはそのモデルが機能することを保証するために定期的な維持管理が有効である。
- デザインスペースに変更がない限り、モデルの維持管理は企業自身の品質システムの範囲で管理することのできる活動である。
- より一層のプロセスに関する知識の獲得がなされれば、DS の拡張、減少、再定義が望まれる。デザインスペースの変更は各地域の要求事項に従う。

Table 5 補遺目次

1. 緒言	製剤開発のアプローチ
2. 製剤開発の要素	
2.1	品質標的製品プロファイル
2.2	重要品質特性（CQA）
2.3	リスクアセスメント：原料特性及び工程パラメータと製剤 CQA との関連づけ
2.4	デザインスペース
2.4.1	変数の選択
2.4.2	申請書におけるデザインスペースの定義及び説明
2.4.3	単位操作デザインスペース
2.4.4	デザインスペースとスケール及び装置との関係
2.4.5	デザインスペースと立証された許容範囲
2.4.6	デザインスペースと不適合境界
2.5	管理戦略
2.6	製品ライフサイクル管理と継続的改善
3. コモンテクニカルドキュメント（CTD）フォーマットでの製剤開発情報及び関連情報の提出	
3.1	品質リスクマネジメントと製品・工程開発
3.2	デザインスペース
3.3	管理戦略
3.4	原薬関連情報
4. 用語	
	添付 1. 異なる製剤開発アプローチ
	添付 2. 実例

Table 6 製剤開発のアプローチ

## [at Minimum]

- 投与経路，剤形，生物学的利用能，用量，安定性などを考慮した，品質，安全性，有効性に関連する，品質標的製品プロファイルの明確化
- 当該製剤の重要品質特性（CQA）の特定．この特定により製剤の品質に影響を及ぼす製剤特性の研究や管理が可能となる
- 原薬，添加剤などの重要品質特性の特定及び望ましい品質を製剤に付与する添加剤の種類と量の選択
- 適切な製造工程の選択
- 管理戦略の明確化

## [Enhanced]

- 製剤処方及び製造工程の体系的な評価，理解，洗練．これには次に挙げるような，作業が含まれる．
  - 従前の知識，実験，リスクアセスメントなどを通じ，製剤の CQA に影響を及ぼしうる原料特性及び工程パラメータを特定する．
  - 原料特性及び工程パラメータと製剤の CQA を関連づける機能的関係を特定する．
- 適切な管理戦略を確立するための，品質リスクマネジメントと組み合わせた深い工程理解の活用．これには，たとえばデザインスペース及び／又はリアルタイムリリーステストについて提案が含まれる．
- 結果として，このより体系的なアプローチにより，製品ライフサイクルの全期間を通じた継続的な改善及びイノベーションが推進されるものと考えられる（ICH Q10「医薬品品質システム」参照）．

この PAR は、他のパラメータが一定のときに、その範囲内で操作するのであれば、品質基準を満たすものが得られる特定された範囲を指します。このような範囲が一つの工程で二つあった場合、それを組み合わせることによってその工程について重要な情報は得られるが、その単なる組み合わせはデザインスペースにはならないとされています。例えば、蒸留後の乾燥工程で、75°Cの温度で20~30 m<sup>3</sup>/分の風量で行うと望ましい乾燥が得られるとします。次に、ある風量に固定し温度を80~70°Cに設定しても望ましいスペースの乾燥物ができるとします。しかし、この範囲全体のどの点を取っても望ましい乾燥減量で、しかも望ましいものになっているかという点、そうでない場合があります。そのため、PAR を組み合わせてもデザインスペースにはなりません。

つまり、温度、風量のパラメータの間に相互作用があるような場合、単純に真四角な枠を作ったデザインスペースにはなりません (Fig. 1)。

#### 2.4 リアルタイムリリース (Table 11)

Q8 本体で強調された概念に、リアルタイムリリースがありました。今回の Step 4 では、これはリアルタイムリリーステストという言葉に置き換えられました。定義は、「品質が保証できる」という表現が加わり、品質が少し強い表現になっています。また、「通常、測定された原材料特性と工程管理との組み合わせを含む」となり、その意味が明確

Table 11 リアルタイムリリーステスト

- リアルタイムリリース(Step 2)
  - 工程データに基づいて工程内製品及び／又は最終製品の品質を評価し、その品質が許容されることを保証できること。
  - 通常、あらかじめ評価されている原料特性と工程管理との適切な組み合わせを含む。
- リアルタイムリリーステスト(Step 4)
  - 工程データに基づいて工程内製品及び／又は最終製品の品質を評価し、その品質が保証できること。
  - 通常、測定された原料特性と工程管理との適切な組み合わせを含む。
- リアルタイムリリーステストは最終製品の試験の実施（ファイナルプロダクトテスト）に置き換えることができる
- リアルタイムリリーステストは当該バッチを出荷するために GMP で求められている品質のレビューと品質管理の手続きには置き換わらない。
  - リアルタイムリリーステストを設定しても最終製品の規格及び試験方法は必要
  - GMP で求める品質管理の要件は変わらない。

になったと思います。

その位置付けは、明確に「リアルタイムリリーステストは最終製品の試験の実施（ファイナル

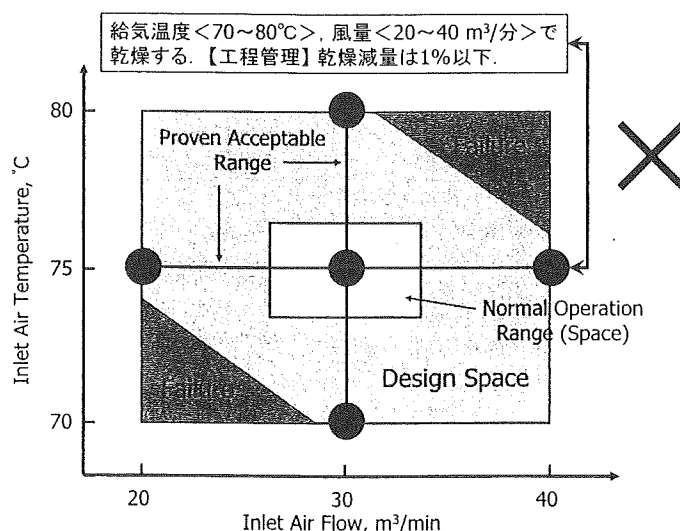


Fig. 1 デザインスペースと PAR の関係<sup>1)</sup>



プロダクトテストング)に置き換えることができる」と示されています。ただし、「当該バッチを出荷するために、GMPで求められている品質のレビューと品質管理の手続きには置き換わることはできない」ことは、従前の通りです。

Table 11 の下の二つの記載は、補遺の記載ではなく、演者が付け加えたものです。「リアルタイムリリーステストングを設定しても、最終製品の規格及び試験法の設定は必要になる」ということです。またGMPで求める品質管理の要件は変わらないということです。このような問題は、Q-IWGで論議しています。

### 3. Q8 ガイドラインの求めるもの (Table 12)

Q8のガイドラインでは、製剤開発では最終的に原材料や工程などの情報を集約させたあとに、管理戦略を明確化して欲しいと述べています。すなわち、恒常的に製品の品質を担保するためには、管理戦略を策定する必要性を強調しています。

管理戦略を立てるには二通りの方法があり、一つは、使用される原材料等の管理が最終製品の品質にどのように寄与するかを記述して、その妥当性を説明することです。これらの管理は、製剤、処方、工程の理解に基づいて行われるべきで、少なくとも重要なパラメータ及び特性の管理が含まれている必要があります。

一方、更に包括的な製剤開発のアプローチでは、

工程及び製剤処方をより把握して、その変動の原因を特定することから始まります。更に、その変動が製剤の品質に影響を与える原因を特定して、その上で適切に理解、把握、管理、制御します。こういったことを行い、最終製品の品質に及ぼす影響を理解するというので、その管理を上流に移行できるような、より柔軟な方法を行うことが可能になります。その結果、最終製品試験の必要性を最小限に抑えることができることとなります。

### 4. おわりに

工程を理解し、品質リスクマネジメントとの組み合わせにより、工程パラメータ管理の妥当性の裏付けとすることができます。原料に変動があっても、融通性に富む工程によって原材料の変動が補完され、一貫した製品の品質をもたらしてくれることを期待しています。

従来の工程管理では、工程の再現性を求めています。原材料の特性が振れた場合には、それに従って最終製品もばらつきます (Fig. 2)。しかし、より包括的な管理戦略では原材料の特性の振れをこのパラメータの変更で吸収して、極めて狭い幅に最終製品の特性をまとめることができることを期待しています。このようなスタイルが、新しい製剤開発で期待されているプロセスです。

以上、簡単にQ8(R1)のご説明をいたしました。

Table 12 管理戦略

- 恒常的な製品の品質を担保するために策定
- 使用される原材料（原薬及び添加剤）、容器及び施設系、中間体及び製剤の工程内管理及び管理が最終製品の品質にどのように寄与するかを記述、その妥当性を説明
- これらの管理は、製剤、処方、工程の理解に基づいて行われるべきであり、少なくとも重要なパラメータ及び特性の管理が含まれている必要がある。
- 包括的な製剤開発アプローチは、工程及び製剤処方の理解をもたらす、その理解により変動の原因を特定することができる。
- その変動が製剤の品質に影響を与える原因を特定し、適切に理解し、管理又は制御しなければならない。
- 変動の原因や、それらが下流の工程、加工、中間製品、最終製品の品質に及ぼす影響を理解することで、管理を上流に移行できるような柔軟なアプローチを行うことが可能となり、最終製品試験の必要性を最小限に抑えることができる。
- この工程の理解は品質リスクマネジメント (ICH Q9 参照) との組み合わせにより工程パラメータ管理の裏付けとなり、その結果、原料に変動があっても、融通性にとむ工程により補完され、一貫した製品の品質をもたらすのである。

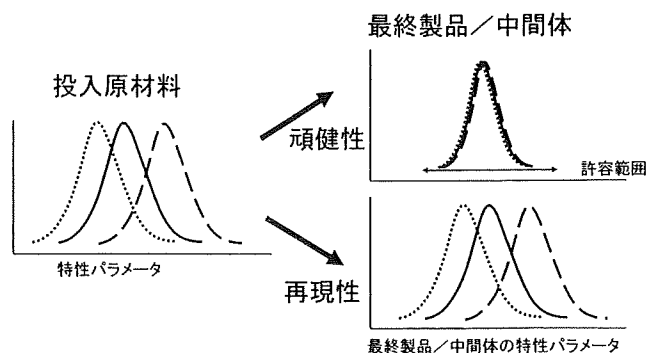


Fig. 2 工程の頑健性と再現性

## 5. 質疑応答

**質問 1** Q8, Q9, Q10 ができ、更に Q8(R1) ができて、ガイドラインの補遺も整備されました。今後は、いかに理解を促進して、普及するかということに尽きると思います。特に製薬企業側が、いわゆる New Paradigm ということででき上がったこのガイドラインに取り組むときの方向性などご教示ください。

**回答** Q8 から Q10 は、必ずこのようにしなければいけないといっているものではないので、非常に分かりにくく、どこから手をつけてよいか分からないと思います。

例えば、承認申請のプロセスに関わることも含めて、製剤開発で求められているのは、どのようなポリシーでその製剤が設計されて、なおかつ何がその製品の工程リスクを低下させたかということです。製薬企業では当然行われていることと思いますが、それを分かりやすい形で規制当局に伝えることと思います。

そのためには、この補遺でいろいろな要素に触れていますが、例えば、品質リスクマネジメントとい

ったようなものを、あまり遠いものと思わないで利用し、日頃行っている製剤開発のプロセスに当てはめ、一度そういう目で見直してみるとということが、一ガイドラインに取り組む道かなと思います。

どこが重要でどこが重要ではないか、どこでリスクが高かったのか、それが開発研究が進んでいくとどのようにリスクを低下できたのかということが説明しやすくなります。規制当局と共通の言語で議論することができるという意味では、意義のあることと思います。

そのようなことが、Q8 でいっている体系的なアプローチということかと思いますが、必ずしもデザインスペースを設計するとか、そのために膨大な実験計画をやってみるということをしなくて、何か新しいことに取り組んだことにならないのかということとそんなことはないというふうに、個人的には思っています。

## 文 献

- 1) 奥田晴宏, 石川英司: ICH ガイドライン, Q8 の概略と展望, 製材機械技術・医薬品品質フォーラム合同シンポジウム, 2007 年 12 月.

## Working Groups Ramp up Quality-based Implementation

Tsuyoshi Ando, Yukio Hiyama, Yoshihiro Matsuda, Tamiji Nakanishi, and Haruhiro Okuda

Representatives of Japan's MHLW report on recent ICH activities and what the ministry expects from Q11.

The International Conference on Harmonization's Implementation Working Group for the quality trio (Q-IWG) held its third meeting in Yokohama, Japan, this past June. Established in October 2007, the group's mission is to promote consistent implementation of ICH Q8 *Pharmaceutical Development*, ICH Q9 *Quality Risk Management*, and ICH Q10 *Pharmaceutical Quality System* around the world and to help industry and regulators maximize the benefits that can be gained from interaction between the guidelines.

### Quality-trio implementation

Because the concepts and principles within ICH Q8, Q9, and Q10 are rather new, it is important to provide clarity on how they can and should be used. Since April 2009, Q-IWG has published 40 questions and answers on the ICH website addressing common questions and concerns. Topics addressed include design space, real-time-release testing, good manufacturing practices, knowledge management, and software solutions.

**Tsuyoshi Ando** is a reviewer in the Office of Biologics of the Japanese Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA) and serves as the Ministry of Health, Labor, and Welfare (MHLW) Q11 deputy topic leader; **Yukio Hiyama** is section chief for the Division of Drugs at the National Institute of Health Sciences (NIHS) and the MHLW Q9 and Q10 topic leader; **Yoshihiro Matsuda** is a reviewer in PMDA's Office of New Drugs (OND) and the MHLW Q11 topic leader; **Tamiji Nakanishi** is a reviewer in PMDA's OND and the MHLW Q-IWG topic leader; and **Haruhiro Okuda** is director of the Division of Organic Chemistry at NIHS, all in Tokyo, Japan, [hiyama@nihs.go.jp](mailto:hiyama@nihs.go.jp). Industry is welcome to submit proposals to Q-IWG at [www.ich.org](http://www.ich.org).

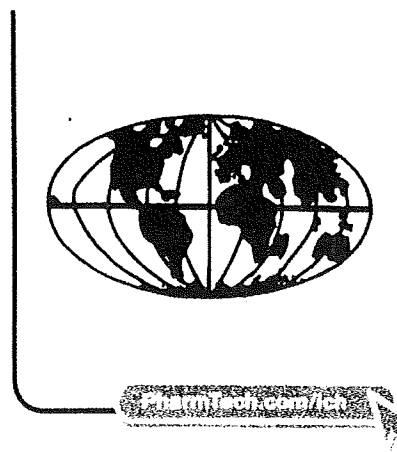
The relationship between continuous-process verification and process validation, and the topic of postapproval product-related inspections have been identified for further discussion.

In June, Q-IWG assigned case-study topic coordinators to write and publish articles and position papers on the quality trio guidelines. In addition, Q-IWG agreed to sponsor three workshops in 2010—one in each ICH region (North America, Europe, and Japan)—to enhance harmonized implementation training among industry and regulators. The workshops will be conducted by ICH experts involved in the guidelines' development.

### Q11 makes headway

Representatives of the ICH Q11 expert working group discussed the pending guideline on *Development and Manufacture of Drug Substances*, including chemical entities and biotechnological/biological entities, during the Yokohama meeting. The group prioritized items that need improvement in the guideline's text, which currently exists as a concept paper.

Participants agreed that the scope of Q11 should not be limited to what to file in a common technical document (CTD)—the bulk of the concept paper—but also should address the more general concepts of drug-substance development and manufacture. The group also discussed sections on starting materials, process validation, development, and control strategy. The group intends to create a revised draft of Q11, including a new product life-cycle section, at its St. Louis, MO, meeting in October 2009. A Step-2 signoff (i.e., consensus by all ICH parties) of Q11 is expected in June 2010.



### Japan's perspective

One challenge facing Japan's Ministry of Health, Labor, and Welfare (MHLW), an ICH party, with regard to Q11 is that the quality of information on drug substances submitted in new drug applications (NDAs) is often inadequate, especially when using the drug-master-file (DMF) system. This inadequacy occurs because DMFs are often prepared by companies that are unfamiliar with NDAs. Despite being created in a CTD format, in many cases, the DMFs' description of manufacturing process and justification of control strategy are insufficient, leading to increased review time and workload on the part of the regulators.

In addition, Japan's Pharmaceutical Affairs Law was revised in 2004 to introduce the use of marketing business licenses. These new licenses, which replaced traditional manufacturing business licenses, enabled pharmaceutical drug marketing authorization holders (MAHs) to outsource their products, a practice that is expected to increase significantly in the coming years. MHLW also expects MAHs to appropriately carry out technology transfer and to perform change-management controls based on knowledge obtained in development studies, with the goal of accelerating continual improvement.

MHLW hopes that Q11 can be a useful tool to encourage communication, not only between industry and regulators, but also between manufacturers and outsourcing partners. Under Q11, pharmaceutical companies will be encouraged to clearly state the rationale for their manufacturing process and control strategy in their NDA documents and within any outsourcing activity agreements. **PT**

## Time-Dependent Changes of Oxytocin Using $^1\text{H-NMR}$ Coupled with Multivariate Analysis: a New Approach for Quality Evaluation of Protein/Peptide Biologic Drugs

Akiko OHNO,<sup>\*,a,b</sup> Nana KAWASAKI,<sup>a</sup> Kiyoshi FUKUHARA,<sup>b</sup> Haruhiro OKUDA,<sup>b</sup> and Teruhide YAMAGUCHI<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Division of Biological Chemistry and Biologicals, National Institute of Health Sciences; and <sup>b</sup>Division of Organic Chemistry, National Institute of Health Sciences; Setagaya-ku, Tokyo 158–8501, Japan.

Received September 2, 2009; accepted September 29, 2009; published online October 5, 2009

A new method that combines  $^1\text{H-NMR}$  and principal component analysis (PCA) was employed to obtain the quality evaluation of biopharmaceuticals, with regard to their quality, consistency, and differences in protein modification patterns. To assess the feasibility of the method, three  $^1\text{H-NMR}$  spectra of oxytocin (OXT) were collected every 7 d (at Day 0, 7 and 14), and time-dependent changes in the spectra were found by PCA of the  $^1\text{H-NMR}$  signals from 0.5–9.0 ppm, excluding the region around the water signal (4.6–5.0 ppm). Although the three OXT spectra seemed similar by simple visual inspection, time-dependent differences among the three spectra were clearly distinguished by a PCA scores plot. Peak changes indicating both OXT decomposition and the emergence of new OXT decomposition products within the timeframe of the experiment were also observed by a PCA loading plot. The results demonstrate that this method can evaluate the consistency of biopharmaceutical quality.

**Key words** quality evaluation; biologic drug; principal component analysis;  $^1\text{H-NMR}$ ; oxytocin

The biotechnology industry has grown significantly in the past decade and continues to grow at a rapid rate. Biopharmaceuticals such as oxytocin (OXT), insulin, and somatropin are large, complex molecules that are receiving increased attention as therapeutics in humans, particularly since this class of molecules can potentially exert pharmacological effects that are unattainable by synthetic chemical products. However, while biologics show great potential value in medicine, many technical hurdles must be overcome before such treatments are made practical. In particular, since biologic drugs are typically derived from living sources such as microorganisms, plants, or human or animal cells, the production and use of such material introduces certain hazards that are not presented by small molecule drugs manufactured through chemical synthesis.<sup>1)</sup> In addition, to fully understand the mechanism of action of a protein/peptide drug, not only the primary amino acid sequence but also the folding, post-translational processing, and multimerization properties of the biologic within the cell must be considered. Moreover, different cell types or cell growth conditions may yield different protein modification patterns, as well as different impurities, into the desired product.<sup>2,3)</sup> Therefore, all of these complications may potentially influence the intended pharmacological effect of biologic drugs. With respect to safety and efficacy concerns surrounding biologics, the consistency of biologics between production lots, including maintenance of tight quality control specifications, is an important consideration for manufacturing biologic drugs.

To date, many analysis methods, such as sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE),<sup>4,5)</sup> capillary electrophoresis (CE),<sup>6)</sup> mass spectrometry (MS), tandem MS (MS/MS),<sup>7)</sup> liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS), high-performance liquid chromatography (HPLC)<sup>8)</sup> and nuclear magnetic resonance (NMR), are employed to evaluate physicochemical characteristics and purity, and thus determine the quality of biopharmaceuticals.<sup>2,3,9,10)</sup> However, characterizing the full complexity of bi-

ologics by present examination methods is still currently difficult. Therefore, new analytical techniques that provide more detailed evaluation of biologic quality are necessary. Among the various analytical techniques, we focused on NMR profiling as the most suitable tool for rigorous quality evaluation because this approach can provide structural information on all compounds contained in product lots, and can distinguish structural differences. Principal component analysis (PCA) is often useful for profiling and classifying sample groups, and to characterize the most effective variables in separation compounds.<sup>11,12)</sup> Therefore, small differences in product quality, e.g. a structural change or the appearance of a decomposition product, are thought to be appropriately evaluated by the combination of PCA using multivariate statistics and  $^1\text{H-NMR}$ .

Herein, we demonstrate that  $^1\text{H-NMR}$  spectroscopy coupled with PCA can provide a molecular fingerprint to precisely characterize a specific protein/peptide, using the determination of time-dependent changes of OXT as an example of this method. The results suggest that this new methodology can be useful for the quality evaluation of a manufactured protein/peptide biologic drug.

### Experimental

**Chemicals and Reagents** All reagents used for  $^1\text{H-NMR}$  experiments were purchased from Wako Chemicals, were of analytical grade (purity >99%), and were used without further purification. Deuterium oxide ( $\text{D}_2\text{O}$ , isotopic purity 99.9%) containing 0.75% 3-(trimethylsilyl)propionic-2,2,3,3- $\text{d}_4$  acid, sodium salt (TSP) was purchased from Aldrich (St. Louis, MO, U.S.A.). TSP was used as an internal standard at a chemical shift ( $\delta$ ) of 0.0 ppm for  $^1\text{H-NMR}$  measurements.

**Sample Preparation and  $^1\text{H-NMR}$  Spectroscopic Analysis** OXT (5 mg) was dissolved in 60  $\mu\text{l}$  of  $\text{D}_2\text{O}$  containing 0.75% TSP, 30  $\mu\text{l}$  of 0.2 M phosphate buffer (pH 6.2), and 510  $\mu\text{l}$  of ultrapure water to produce a 600  $\mu\text{l}$  solution for NMR measurements. The sample was introduced into an NMR test tube, and nuclear Overhauser effect spectroscopy ( $^1\text{H-NOESY}$ ) spectra were recorded every 7 d at 25  $^\circ\text{C}$  using a Varian 600 MHz NMR spectrometer equipped with a coldprobe. Thirty-two free induction decays (FIDs) with 77 K data points per FID were collected using a spectral width of 9615.4 Hz, an acquisition time of 4.00 s, and a total pulse recycle delay of 2.02 s. The

\* To whom correspondence should be addressed. e-mail: ako-ohno@nihs.go.jp