

ボン錠及び酢酸コルチゾン錠について検討を行った。それぞれの溶出試験に使用される SDS の濃度は、3w/v%、2w/v%及び0.3w/v%である。全ての製剤において、SDS の代わりに STS (C<sub>14</sub>) を適用した場合、より高い溶出率をもたらすことが確認された。しかし、使用濃度との正比例的な関係は認められなかった。すなわち、使用濃度が 3w/v%及び2w/v%のアネトールトリチオン錠とイプリフラボン錠では、同程度の溶出率の上昇が確認された。しかし、使用濃度が 0.3w/v%である酢酸コルチゾン錠でも、溶出率の上昇の程度は、アネトールトリチオン錠及びイプリフラボン錠とほとんど変わらなかった。

#### E. 結論

アネトールトリチオン錠、イプリフラボン錠及び酢酸コルチゾン錠用い、溶出試験の結果に影響を及ぼすドデシル硫酸ナトリウム (SDS) の品質について検討を行った。その結果、SDS に混在するテトラデシル硫酸ナトリウム (STS) が溶出挙動に影響を及ぼすことが明らかとなった。また、市販の SDS について、アルキル硫酸ナトリウム組成を調査したところ、全ての SDS から STS が検出された。

#### F. 参考文献

- 1) 第 15 改正日本薬局方解説書，東京，廣川書店，2006，P. B-587.
- 2) 厚生省医薬安全局審査管理課長：医療用医薬品の品質に係る再評価の予試験について，医薬審第 599 号，平成 10 年 7 月 15 日。
- 3) 小和田和宏，栗田浩幸，上村慎子，黒見公一，上野千恵，水野くみ子，藤原厚子，山本正利；静岡県環境衛生科学研究所報告，49，47-50 (2006)。
- 4) 第 15 改正日本薬局方解説書，東京，廣川書

店，2006，P. C-4552-4555.

- 5) 厚生労働省医薬食品局審査管理課，医療用医薬品品質情報集，平成 14 年 3 月版，P. 132.
- 6) 厚生労働省医薬食品局審査管理課，医療用医薬品品質情報集，平成 15 年 10 月版，P. 166.
- 7) 厚生労働省医薬食品局審査管理課，医療用医薬品品質情報集，平成 15 年 12 月版，P. 136.
- 8) Nakamura, K., Morikawa, Y., Matsumoto, I.; *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, **58**, 72-77 (1981).
- 9) 近澤正敏，田嶋和夫：界面化学，東京，丸善，2010，p. 159-161.

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

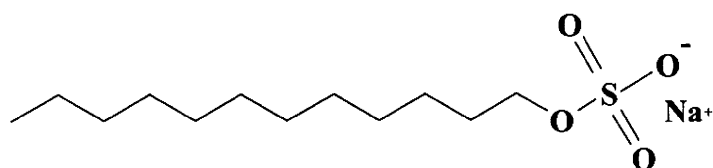
- 1) 川口正美，梶村計志，田口修三：トコフェロールニコチン酸エステルカプセルにおける溶出挙動の経時変化に関する検討，医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス，**42**，149-155 (2011)。
- 2) 梶村計志，川口正美，四方田千佳子：溶出試験に使用されるラウリル硫酸ナトリウムの品質に関する研究 (第 1 報)，医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス (投稿中)

##### 2. 学会発表

- 1) 川口正美，梶村 計志，田口修三：トコフェロールニコチン酸エステルカプセルにおける溶出挙動の経時変化に関する検討，日本薬学会第 130 年会 (2010，岡山)
- 2) 川口正美，梶村 計志，田口修三：保存により溶出挙動に変化が認められた硬カプセル剤について，第 47 回全国衛生化学技術協議会年会 (2010，神戸)

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



$C_{12}H_{25}NaO_4S$  (MW:288.38)

図1 ドデシル硫酸ナトリウムの構造式

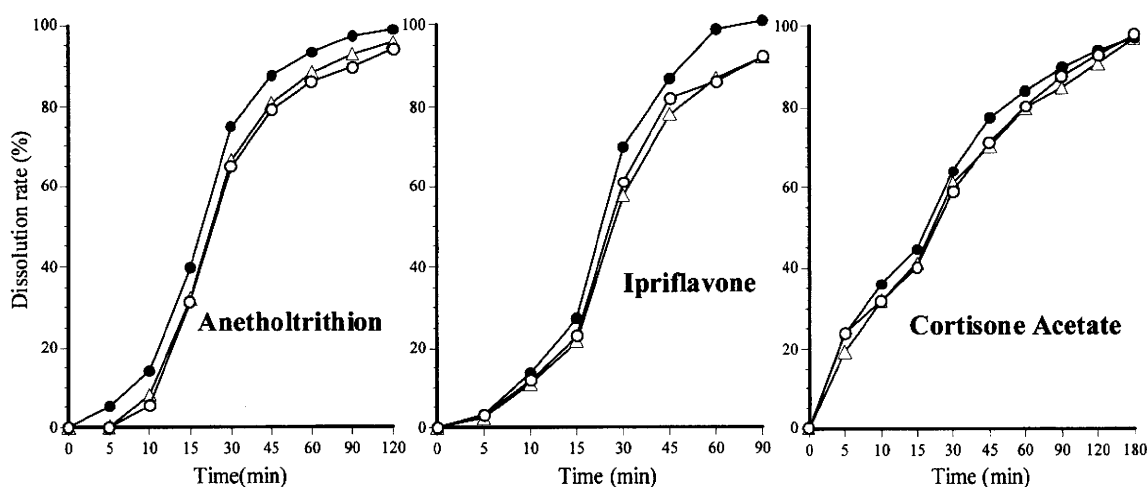


図2 SDSによる溶出挙動の違い  
 $\Delta$ ; SDS-A ●; SDS-B, ○; SDS-C

表1 局方試験の結果

	規格	試料		
		SDS-A	SDS-B	SDS-C
性状(pH) 10w/v%		6.946	7.019	6.124
純度試験				
(1) アルカリ	黄色を呈する	黄色を呈する	黄色を呈する	黄色を呈する
(2) 塩化ナトリウム	併せて8.0%以下	0.04±0.01	0.04±0.01	0.06±0.01
(3) 硫酸ナトリウム		0.11±0.02	0.73±0.05	0.09±0.01
(4) 未反応アルコール	4.0%以下	0.06±0.02	0.20±0.02	0.04±0.02
水分含量	5.0%以下	0.42±0.01	1.01±0.00	0.61±0.01
総アルコール量	59.0%以上	60.69±1.70	63.73±1.95	59.69±0.30

表2 試験に使用したSDSのアルキル鎖組成

	製造会社	アルキル鎖組成 (%)		
		C12	C14	C16
SDS-A	I	99.60	0.40	N.D.
SDS-B	II	66.74	26.31	6.95
SDS-C	III	99.86	0.14	N.D.

N.D.; Not detected, N=3

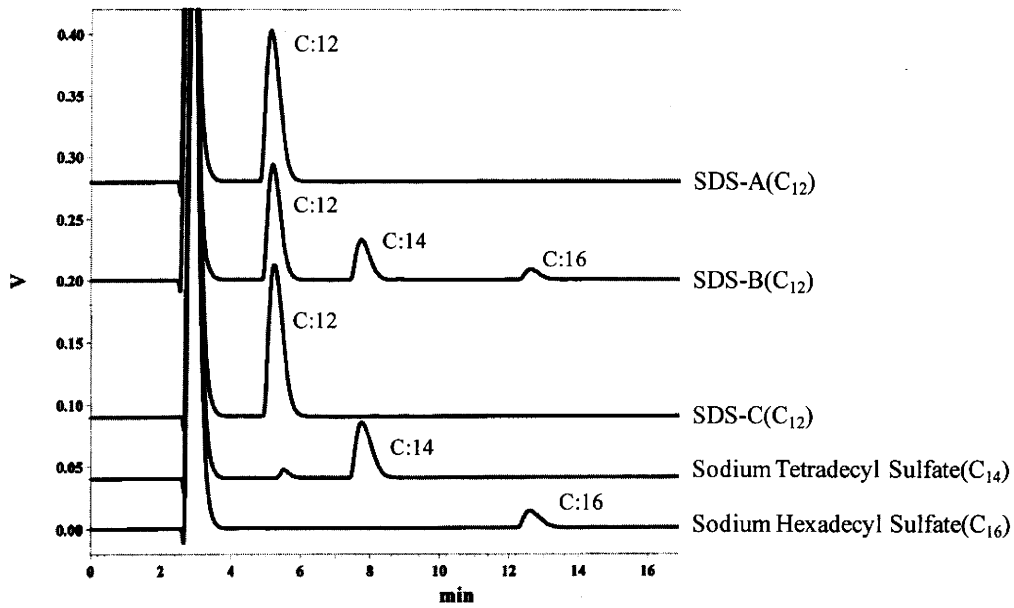


図3 SDSのクロマトグラム

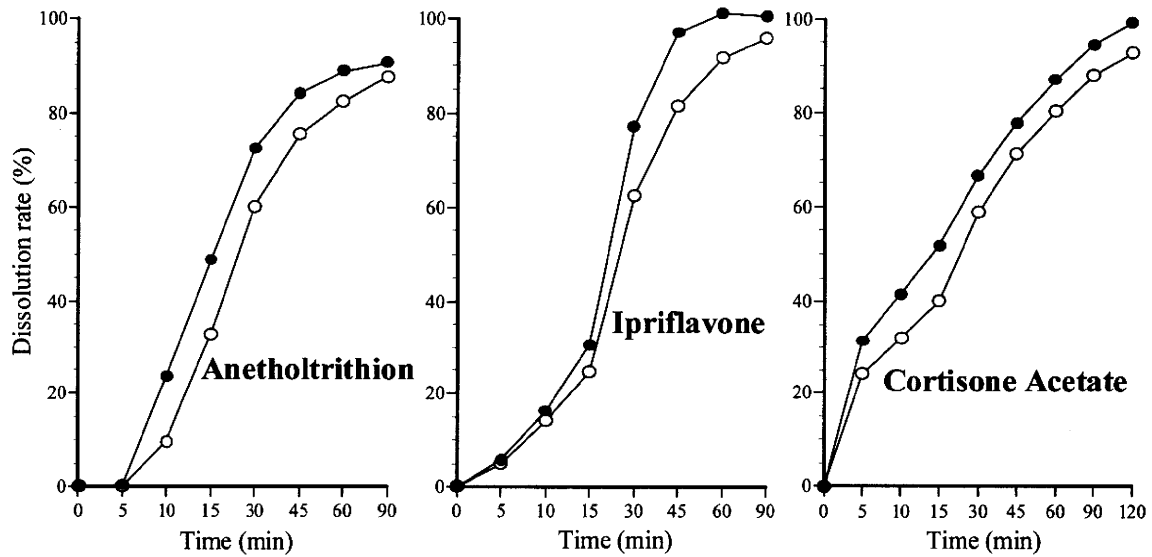


図4 テトラデシル硫酸ナトリウムとドデシル硫酸ナトリウムの比較  
ドデシル硫酸ナトリウム(C12); ○、テトラデシル硫酸ナトリウム(C14); ●

表3 市場に流通するSDSのアルキル鎖組成

SDS	製造会社	アルキル鎖組成 (%)		
		C12	C14	C16
SDS-D	I	99.69	0.31	N.D.
SDS-E	I	99.68	0.32	N.D.
SDS-F	II	99.77	0.23	N.D.
SDS-G	II	97.58	1.79	0.63
SDS-H	IV	99.96	0.04	N.D.
SDS-I	V	99.77	0.23	N.D.
SDS-J	VI	99.62	0.38	N.D.
SDS-K	VI	75.32	24.42	0.26
SDS-L	VII	99.50	0.50	N.D.
SDS-M	VIII	99.79	0.21	N.D.

N.D.; Not detected, N=3

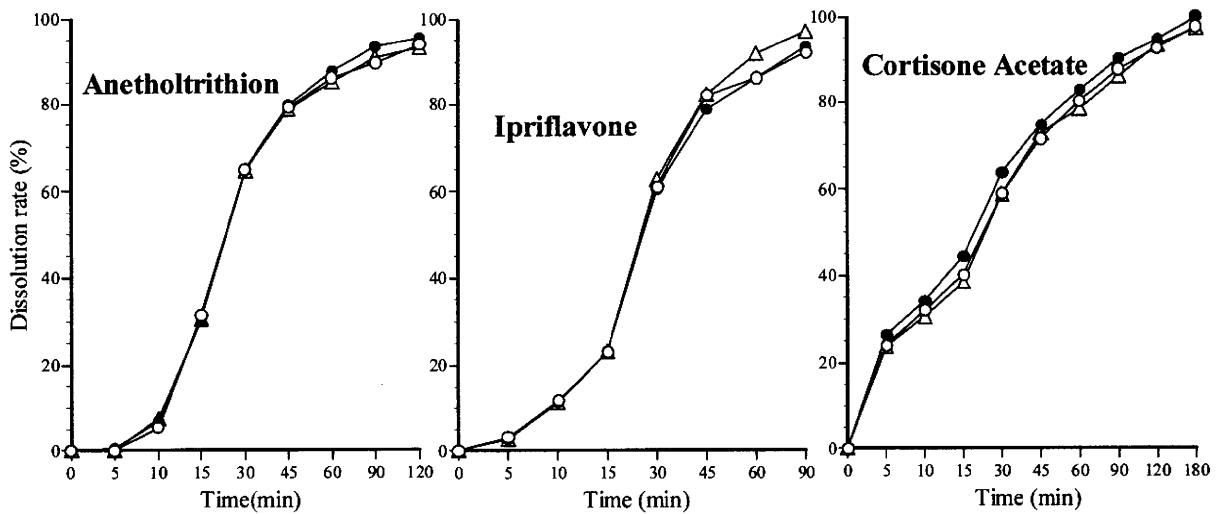


図5 溶出挙動に及ぼすテトラデシル硫酸ナトリウム (C<sub>14</sub>)配合の影響  
 テトラデシル硫酸ナトリウム(C14)(0%; O, 1%; Δ, 3%; ● )

脂質分散系製剤の製剤評価法に関する研究 (1)

-リポソーム製剤のガイドラインに関する検討-

研究分担者 柴田 寛子 国立医薬品食品衛生研究所 主任研究官

研究要旨 製剤機能が特殊な製剤の後発医薬品に対して、FDA ではどのような対策がとられているのか調査し、特にリポソーム製剤について、FDA が提示している推奨事項をまとめ、設定目的・背景、測定方法などを概説した。

A. 研究目的

FDA 医薬品評価センター (Center for Drug Evaluation and Research)にある後発医薬品部(Office of Generic Drugs)では、数年前から個別の製剤に対する生物学的同等性試験の推奨事項を公表している<sup>1)</sup>。2003年に最終版となった経口製剤の生物学的利用能および生物学的同等性に関するガイダンス (Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products-General Considerations)<sup>2)</sup>などでは、適切な試験を設計するのが難しい特殊な製剤が主な対象となっており、試験方法に関して、より具体的な推奨事項が記載されている。対象製剤には既に後発医薬品が販売されているものから、販売されていないものまで含まれており、剤形も錠剤・カプセルから坐剤やパッチ・テープ剤、さらにはインプラントなども含まれ、広く網羅されている。特に、実際に後発医薬品はまだ承認されていないものの、マイクロスフェア製剤のリュープリン<sup>®3)</sup>やリポソーム製剤のドキシル<sup>®</sup>に関するガイダンス(案)も提示されており、興味深い内容となっている。我が国においても、これら特殊な製剤の後発医薬品が開発されることは十分に想定され、製剤機能が特殊な製剤に対して適切な生物学的同等性試験のあり方を検討する上で、FDA で講じられている方策を詳細に把握しておく必要がある。本報告書では、ドキシ

ルビシン封入 PEGリポソーム(PLD)であるドキシル<sup>®</sup>に関するガイダンス“ドキシルビシン塩酸塩に関するドラフトガイダンス”を主な対象とし、推奨事項をまとめ、その他ガイダンスや論文を参照し、論理的解釈を試みる。

B. 研究方法

FDA が 2010 年よりホームページ上で公開しているガイダンス、“ドキシルビシン塩酸塩に関するドラフトガイダンス”<sup>4)</sup>(添付資料 1)を主に調査した。さらに、2002年にFDAより出されたリポソーム製剤に関するガイダンス、“リポソーム製剤:化学、製造及び品質管理;ヒト薬物動態と生物学的利用能;表示文書(案)”<sup>5)</sup>(添付資料 2)、及び、このガイダンスに寄せられたパブリックコメント<sup>6)</sup>も一部対象とした。FDA 後発医薬品部の職員が執筆したガイダンスに関連する総説<sup>7)</sup>に記載された内容もまとめた。

C. 研究結果と考察

“ドキシルビシン塩酸塩に関するドラフトガイダンス”において、生物学的同等性を証明するために推奨されているのは、基本的に臨床試験(表1)と In vitro 試験(表2)の2試験である。その他、溶出試験は適切な方法を設定して、12 製剤で試験を行い、標準製剤と試験製剤を比較する。注目すべき点は、臨床試験や In vitro 試験を行う前に、前提条件が設定されていることである(表3)。即ち、1段階目として、

標準製剤と医薬品組成が同じであること、同じ封入方法で製造されていること、さらに様々なリポソーム特性が同等であることを証明した後に、2段階目として臨床試験(体内動態解析、AUC 及び Cmax の測定)や in vitro 試験(粒子径の測定)を行い、in vivo 及び in vitro において生物学的同等性を証明することが求められている。他の製剤に対する生物学的同等性ガイダンスの中で、前提条件が設定されている製剤は他に無く、極めて特殊な対応と言える。これには2009年に先発品メーカーのJ&Jより提出された、ドキシルの後発医薬品の生物学的同等性試験と承認申請に関する市民請願(citizen petition)<sup>8)</sup>が、ある程度影響しているものと推察される。以下、ドキシソルピシン封入 PEG リポソーム(PLD)の製剤的特徴などを概説した後、各推奨事項に関して細かく論じる。

#### ドキシソルピシン封入 PEG リポソーム(PLD)

ドキシルは粒子径 80-90 nm の単層膜リポソームで、リポソーム内部(膜内ではなく)にドキシソルピシン塩酸塩が含有されている。脂質二重膜は水素添加大豆リン脂質・コレステロール・PEG 脂質より構成され、PEG 鎖はリポソーム表面と内部の両方にあると考えられている。この PEG が形成するリポソーム表面の水和層によって、体内に投与された後にリポソームが細網内皮系に取り込まれることを回避し、血中滞留性が延長される。ドキシソルピシンは硫酸アンモニウム勾配を利用した能動的ローディング法によってリポソーム内に封入され、封入効率は 90%以上で非常に高い。さらに、リポソーム内のドキシソルピシンは硫酸イオンと不溶性沈殿を形成しており、in vivo 及び in vitro において極めて安定にドキシソルピシンがリポソーム内に保持されることを可能にしている。生体内における作用メカニズムとしては、長く血中に留まることでEPR(Enhanced permeation and retention)効果による腫瘍組織への集積が増加し、腫瘍細胞に取り込まれるかドキシソルピシンを放出することによって抗腫瘍効果を発揮すると考えられている。従って、1)ドキシソルピシンの安定封入、2)血中滞留性の延長、3)EPR効果による腫瘍組織への集積、4)腫瘍細胞へのドキシ

ソルピシン放出、が PLD の重要特性と考えられる<sup>7)</sup>。これら重要特性に影響すると考えられている要因を列挙すると(表4)、PLD の重要特性には製剤側の物理化学的要因が数多く影響することが分かる。”ドキシソルピシン塩酸塩に関するドラフトガイダンス“は以上の背景に基づいて作成されていると考えられる。

#### 前提条件

前提条件には、医薬品組成が同じであること、標準製剤と同様に硫酸アンモニウム勾配を利用した方法で製造されていること、リポソーム特性が同等であることが推奨されている(表3、5)。上述したように、リポソームは脂質組成によって物理化学的性質や体内動態が異なること、ドキシソルピシンの封入方法によってドキシソルピシンの封入状態・安定性が大きく異なることは明白であり、医薬品組成と封入方法が同じであることを求めるのは非常に合理的な提案だと思われる。医薬品組成に関しては、質的・量的に標準製剤と同等でなければならないが、緩衝剤や保存料・抗酸化物については、安全性と有効性を示せば異なってもよいと記載されている。特に脂質添加物に関しては、天然・合成の区分が同じものを使い、原薬と同じ高いレベルの品質管理が要求されている。さらに同じ供給元と制限すれば、開発段階における非同等を回避できる確率が上がるかもしれない。製造方法に関しては、1)硫酸アンモニウムを含有したリポソームを調製、2)リポソームの粒子径制御、3)硫酸アンモニウム勾配の形成、4)薬物ローディング、という4段階の製造工程まで記載されている。加えて、Quality by Design の方法で、重要特性や重要工程パラメーターを明らかにすることが提案されている。通常の注射剤と比較して製造工程が格段に多いことが予想されることから、工程パラメーターの変動がリポソーム特性にどれくらい影響するのか評価し、標準製剤とその特性を比較することで最適な値を選択するよう推奨されている。

同等であることが求められているリポソーム特性と、その特性を設定した目的・概要、各特性を評価・測定する方法例を表5にまとめた。これら9項目は、2002

年に FDA から出されたリポソーム製剤のガイダンス<sup>5)</sup>で推奨された“品質管理に重要な物理化学的特性”と類似しており、表6にその物理化学的特性を列挙し、企業から寄せられたパブリックコメントの抜粋も記載した<sup>6)</sup>。表5と6を比較すると、浸透圧特性と光散乱強度などは省かれているが、ドキシル特有の特性として、内部のイオン環境や薬物封入状態、リポソーム表面の PEG が追加されている。また、リポソームの組成と粒子径分布は前提条件の1と In vitro 試験と内容が重複しており、同等性を証明する上で重要な特性であることが分かる。粒子径分布の評価に関しては、表3に示すように数多くの手法が確立、もしくは検討されているが、リポソームの粒子径測定で最も汎用されている方法は動的散乱法(DLS)である。2製剤を並べて評価するのであれば、概ね DLS による評価で問題無いと思われるが、DLS は大きな粒子の混入に影響されやすいので、分画手法と組み合わせるほうが良いとする意見もある<sup>9)</sup>。その他の特性も重要と思われるが、表4のコメントを見ると否定的な意見も見受けられる。例えば、表面電位・電荷は、電気泳動法によるゼータ電位の測定が一般的であるが、イオン強度に影響されやすい上、PLD のような表面荷電の弱いリポソームでは再現性が悪い；脂質二重膜の相転移は主に DSC で測定されるが、特にコレステロール含量が多いリポソームの場合は明確な相転移は観察されない可能性が高く、測定意義は限られる；薬物封入状態やリポソームの形態・ラメラの枚数は、低温透過電子顕微鏡による評価が最も明確な結果が得られると思われるが、手技が難しいのと、量的な評価には不向きな手法である、などが挙げられる。このように、推奨されている特性の中には必ずしも広く認められた定量・評価方法が無い特性も含まれている。特に、リポソーム表面の PEG と In vitro 漏出率の評価方法は、十分は検討がなされていない。In vitro 漏出率に関しては試験条件が例示されているものの(表7)、実際に試験を実施するにあたり、リポソームと遊離薬物の分離方法や、緩衝液の種類、製剤の希釈倍率など、検討すべき点が多い。リポソーム表面の PEG 層の厚

さは、PLD の製剤機能を評価する上で非常に重要な特性の一つであるが、その測定方法に関しては極めて情報が少なく、一般的な測定方法が無いのが現状である。また、そもそも各リポソーム特性を同一と見なす基準が設定されておらず、後から述べる臨床試験や In vitro 試験のような信頼区間法による判定までは求められないようであるが、具体的な指標の設定が望まれる。従って、リポソーム特性の同等性に関しては、特にリポソーム表面の PEG や In vitro 漏出性は測定方法の検討なども含めて、議論を重ねて改訂されるべき点が多く残されていると思われる。

### 臨床試験

臨床試験で特徴的なのは(表1)、血中の遊離 DXR とリポソーム封入 DXR の両方を測定することが求められている点である。PLD を静脈内投与した後、①DXR はリポソームに封入された状態、②リポソームには封入されていないが血漿タンパク質と結合した状態、③遊離状態の 3 つの状態が存在している。PLD の血中からのクリアランスには、①が腫瘍組織や細網内皮系に取り込まれるか、DXR がリポソームから放出された②③の代謝・排泄が主な経路である。以上のことから、PLD の PK と PD の関係性を理解するには、遊離 DXR とリポソーム封入 DXR の両方を測定する必要があると考えられている<sup>7)</sup>。(なお、主な代謝物であるドキシソルビシノールは、血中の遊離 DXR と必ずしも直接的な相関関係に無いと考えられ、その測定は要求されていない。)2002年にFDAが提示したリポソーム製剤に関するガイダンス<sup>5)</sup>の1節、III. ヒト薬物動態と生物学的利用能 B. In vivo 完全性(安定性)の考察では、遊離薬物と封入薬物を分離できるならば in vivo における安定性を測定すべき、但し in vivo でリポソームが『安定』であると考えられる場合は総薬物濃度で体内動態と生物学的利用能を評価してもよい、と記載されている。従って、分離して測定する目的には、in vivo 安定性の評価も含まれていると思われる。リポソーム製剤に関するガイダンスにおける『安定』とする判断基準は、“循環血中において薬物の大部分がリポソームに封入されている”、“遊離

薬物とリポソーム封入薬物の割合が一定のままである”と記載されている。この記述の解釈としては、両方の条件を満たす場合のみ『安定』と判断されるようである(そもそもこの『安定』とする判断基準を疑問視する意見がいくつか寄せられている)。PLD の体内動態を解析した報告によると、血中総 DXR 濃度とリポソーム封入 DXR 濃度には殆ど差が無く、遊離 DXR 濃度はリポソーム封入 DXR 濃度のおよそ 1000 分の 1 程度と、血中において大部分がリポソームに封入されているが<sup>10)</sup>、遊離薬物とリポソーム封入薬物の割合は一定とはならない。従って、PLD は『安定』とは判断されないため<sup>7)</sup>、遊離 DXR とリポソーム封入 DXR の両方を測定することが求められているようである。PLD の場合は、これまでに分離して測定したデータが報告されていることと、最近では前処理無しで測定できるような分析手法も開発されつつあることから、ガイダンスの要求に従うことは可能であろう。しかし、封入薬物や脂質組成などリポソーム組成が標準製剤と全く同一で、粒子径も同等、かつ同じ薬物封入方法で製造された試験製剤について、in vivo における生物学的同等性を評価する際に、遊離と封入薬物を分離して測定する意義がどれほどあるのか、標準製剤と総薬物濃度のパラメーターは同等なのに遊離薬物濃度が同等にならない場合が想定され得るのか、さらなる情報の蓄積と検討が必要と思われる。

”ドキシソルピシン塩酸塩に関するドラフトガイダンス“の臨床試験で要求されているのは、あくまで薬物動態パラメーターの同等性であり、薬力学的な同等性は求められていない。しかし、J&J の市民請願や論文において、PLD の場合は通常の薬物動態パラメーターによる生物学的同等性試験では不適切であると主張されている。J&J の検討では、脂質組成や薬物封入方法、粒子径の異なる PLD をいくつか調製し、そのうちマウスにおける血中薬物動態パラメーター AUC や Cmax が同等の 4 製剤について抗腫瘍活性試験が行われている<sup>11)</sup>。さらに、標準製剤よりも抗腫瘍効果の高かった製剤と標準製剤、標準製剤と同じ脂質組成・封入方法で粒子径の異なる 2 製剤、これら 4 製剤

についてサルを使った毒性試験が実施されている。また、中国のグループが、粒子径の異なる 2 種類の PLD について薬物動態や抗腫瘍効果・毒性を評価し、AUC で有効性や安全性の予測が可能かどうか検討しており、血漿や腫瘍中の薬物濃度からは効果や毒性を予測することは困難で、正常・腫瘍組織中の遊離薬物及びリポソーム封入薬物濃度を分離して時間経過に従って測定することができれば、抗腫瘍効果や毒性を予測することが可能かもしれないと結論付けている<sup>12)</sup>。これらの報告は、AUC や Cmax が同等でも、抗腫瘍効果や毒性が異なる場合があることを示しているが、上述したようにガイダンスが要求している前提条件を満たした製剤で検討されていないので、ガイダンスの主旨を全面的に否定するには至っていない。しかし、このような報告を受けて、生物学的同等性試験として、①リポソーム特性など製剤的な同一性と in vivo 生物学的同等性を証明するアプローチの他、②製剤的に同一でなくても非臨床及び臨床試験で、それぞれ動物を使った PK/PD 試験及びヒト生物学的同等性試験を実施して同等性を証明するアプローチを提案している研究者もおり<sup>13)</sup>、②のアプローチも一考の価値はあるかもしれない。

#### In vitro 試験

測定するのは粒子径分布で、測定パラメーターは D<sub>10</sub>、D<sub>50</sub>、D<sub>90</sub> とそれぞれ 10%、50%、90% の累積分布に一致している粒子径の測定が要求されている(表 2)。測定方法は、上述したように、動的光散乱法(DLS)が一般的である。しかしながら、USP や JP に採用されているのは、表 5 にも列挙されていないが、レーザー回折法だけである。USP34 にはその他の試験法の中に”Light Diffraction Measurement of Particle Size”というレーザー回折による粒子径測定の試験方法が記載されている。JP16 では参考情報に“レーザー回折による粒子径測定法”が記載され、USP とほぼ同じ内容となっており、測定結果はふるい下積算分布および体積基準積算密度分布で記録される。汎用される指標は、ガイダンスと同じ x10(d10)、x50(d50)、x90(d90)である。レーザー回折法の測定範囲は、一



般的には0.1 um～3mmとされているが、最新の装置では測定対象が広がっており、装置によっては10 nmの粒子も測定可能である。従って、平均粒子径が80～90 nmのPLDもレーザー回折によって測定可能であると思われる。

#### 溶出試験

後発医薬品部では溶出試験のデータベースの構築が進められているようである。ガイダンスには、具体的な試験方法はそのデータベースを参照するよう記載されているが、今のところ特筆すべき情報は掲載されていない。例えば、リュープリン<sup>®</sup>の溶出試験には、フローズルーセル溶出試験装置を使って溶出試験法を構築する・・・、といったコメントが記載されており、ドキシル<sup>®</sup>に関しても何らかのコメントが期待される。

#### D. 結論

FDAが2010年に提示した”ドキソルビシン塩酸塩に関するドラフトガイダンス“は、日本国内を始め、海外でも様々な講演や総説でその内容が取り上げられている。それだけ、ドキシルの後発品開発やFDAの特殊な製剤に対するガイダンスの提示に関心が寄せられているということであろう。上述してきたとおり、”ドキソルビシン塩酸塩に関するドラフトガイダンス“には、さらなる改善が期待される部分があるものの、概ね合理的な方策が講じられていると思われる。リポソーム製剤は、リポソーム化する目的、脂質組成や封入薬物、表面修飾の有無によって評価すべきリポソーム特性が大きく異なる可能性が高い。従って、我が国においても、リポソーム製剤など特殊な製剤に対しては、例えば個別にガイダンスを提示するか、現行のBEガイダンスのQ&Aに推奨事項を提示するなど、製品ごとに対応するのが適切かと思われる。ただし、何らかの方策を施す前に、”ドキソルビシン塩酸塩に関するドラフトガイダンス“に記載された推奨事項に関して、製薬業界・研究者から意見を集めるなどして、議論する必要がある。大きな課題としては、臨床試験の遊離薬物と封入薬物を分離して測定する意義、生物学的同等性試験だけでなく薬力学的試験も必要かど

うか、さらにはリポソーム特性の同等性をいかにして証明すれば良いか、などが挙げられる。特に、同等性の証明が求められているリポソーム特性のうち、測定・評価方法が確立されていないリポソーム表面のPEG層の厚さ、In vitro漏出性に関しては、実験的検討が急務であろう。そこで、本年度ではリポソーム表面のPEG層の厚さの評価方法を検討している。来年度はIn vitro漏出性の評価方法に関して検討を行う予定である。

添付資料 1 Draft Guidance on Doxorubicin Hydrochloride

添付資料 2 Guidance for Industry: Liposome Drug Products, Chemistry, Manufacturing, and Controls (DRAFT)

#### F. 参考文献

- 1) Bioequivalence Recommendations for Specific Products. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm072872.pdf>
- 2) Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products—General Considerations. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm070124.pdf>
- 3) Draft Guidance on Leuprolide Acetate. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM212614.pdf>
- 4) Draft Guidance on Doxorubicin Hydrochloride. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM199635.pdf>
- 5) Guidance for Industry: Liposome Drug Products, Chemistry, Manufacturing, and Controls; Human Pharmacokinetics and Bioavailability; and Labeling Documentation. <http://www.fda.gov/downloads/Drug>

- s/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM070570.pdf
- 6) Re: Docket No. 02D-0337  
[www.fda.gov/ohrms/dockets/dailys/02/Oct02/103002/02d-0337-c000001-01-vol1.pdf](http://www.fda.gov/ohrms/dockets/dailys/02/Oct02/103002/02d-0337-c000001-01-vol1.pdf)  
[www.fda.gov/ohrms/dockets/dailys/02/Nov02/110102/02d-0337-c000002-01-vol1.pdf](http://www.fda.gov/ohrms/dockets/dailys/02/Nov02/110102/02d-0337-c000002-01-vol1.pdf)  
[www.fda.gov/ohrms/dockets/dailys/02/Nov02/111402/02d-0337-c000003-01-vol1.pdf](http://www.fda.gov/ohrms/dockets/dailys/02/Nov02/111402/02d-0337-c000003-01-vol1.pdf)  
[www.fda.gov/ohrms/dockets/dailys/02/Nov02/111502/02d-0337-c000004-01-vol1.pdf](http://www.fda.gov/ohrms/dockets/dailys/02/Nov02/111502/02d-0337-c000004-01-vol1.pdf)  
[www.fda.gov/ohrms/dockets/dailys/02/Nov02/111802/02d-0337-c000005-01-vol1.pdf](http://www.fda.gov/ohrms/dockets/dailys/02/Nov02/111802/02d-0337-c000005-01-vol1.pdf)  
[www.fda.gov/ohrms/dockets/dailys/02/Nov02/112002/02d-0337-c000006-01-vol1.pdf](http://www.fda.gov/ohrms/dockets/dailys/02/Nov02/112002/02d-0337-c000006-01-vol1.pdf)  
[www.fda.gov/ohrms/dockets/dailys/02/Nov02/112002/02d-0337-c000007-01-vol1.pdf](http://www.fda.gov/ohrms/dockets/dailys/02/Nov02/112002/02d-0337-c000007-01-vol1.pdf)  
[www.fda.gov/ohrms/dockets/dailys/02/Nov02/112102/02d-0337-c000008-01-vol1.pdf](http://www.fda.gov/ohrms/dockets/dailys/02/Nov02/112102/02d-0337-c000008-01-vol1.pdf)  
[www.fda.gov/ohrms/dockets/dailys/02/Nov02/112202/02d-0337-c000009-01-vol1.pdf](http://www.fda.gov/ohrms/dockets/dailys/02/Nov02/112202/02d-0337-c000009-01-vol1.pdf)  
[www.fda.gov/ohrms/dockets/dailys/03/May03/050103/02d-0337-c000010-01-vol1.pdf](http://www.fda.gov/ohrms/dockets/dailys/03/May03/050103/02d-0337-c000010-01-vol1.pdf)
- 7) Jiang, W., lionberger, R., Yu, L.X.: *Bioanalysis* **3**, 333-344 (2011)
- 8) Citizen Petition FDA-2009-P-0216. Ortho-Biotech Products, L.P. 2009.  
[www.regulations.gov/search/Regs/home.html#documentDetail?R=09000064809878d9](http://www.regulations.gov/search/Regs/home.html#documentDetail?R=09000064809878d9)
- 9) Burgess, D.J., Crommelin, D.J., Hussain, A.S., Chen, M.L.: *AAPS PharmSci.* **6(1)** E11 (2004)
- 10) Gabizon, A., Catena, R., Uziely, B. et al.: *Cancer Res.* **54** 987-992 (1994)
- 11) Mamidi, R.N., Weng S., Stellar, S. et al.: *Cancer Chemother. Pharmacol.* **66** 1173-84 (2010)
- 12) Cui, J., Li, C., Guo, W. et al.: *J. Control. Release.* **118** 204-15 (2007)
- 13) Blume, H.H., *EUFEPS BABP Network Open Discussion Forum "Revision of BE requirements for Modified Release Products"* (2011)

表1 臨床試験

試験タイプ	絶食
試験計画	単回投与、2剤2期クロスオーバー法
含量	50 mg/vial
投与量	50 mg/m <sup>2</sup>
被験者	白金製剤を主体とした化学療法後の進行性および再発卵巣ガン患者
測定分析物	遊離ドキソルビシンとリポソーム封入ドキソルビシン
90%信頼区間に基づく生物学的同等性	遊離ドキソルビシンとリポソーム封入ドキソルビシンのAUCとCmax

表2 In vitro試験

試験タイプ	リポソーム粒子径分布
試験計画	試験製剤と標準製剤の少なくとも3ロットについてin vitro生物学的同等性試験を行う
測定パラメーター	D <sub>10</sub> , D <sub>50</sub> , D <sub>90</sub>
95%信頼区間に基づく生物学的同等性	D <sub>50</sub> 値とスパン=(D <sub>90</sub> -D <sub>10</sub> )/D <sub>50</sub> 、および多分散指数に基づく母集団生物学的同等性 (Population Bioequivalence)

表3 試験を行う際の前提条件

PEG化リポソーム製剤である試験製剤と標準製剤が

- 1、同じ医薬品組成であること
- 2、硫酸アンモニウム勾配を利用した能動的リポソームローディング法で製造されていること
- 3、表4に示すリポソームとしての特性が同等であること

表4 PLDの重要特性

重要特性	影響要因
ドキソルビシンの安定封入	薬物/脂質濃度比、内部体積、硫酸アンモニウム勾配 脂質二重膜の物理的状態
血中滞留性の延長	ドキソルビシンが安定にリポソーム内部に保持され漏出しにくいこと → 脂質二重膜の状態、封入薬物の状態(液体/ゲル)、リポソーム内部環境 タンパク結合や細網内皮系による取込みが最小限に抑えられていること → 脂質組成、粒子径、表面荷電、脂質密度、立体安定性
EPR効果による腫瘍組織への集積	粒子径(100nm以下が望ましい)、脂質組成 腫瘍の種類、腫瘍微小環境
腫瘍細胞へのドキソルビシン放出	薬物漏出への影響要因と同様

表5 同等であることが求められるリポソーム特性

特性	目的・概要	評価・測定方法例
リポソームの組成	脂質組成、遊離薬物および封入薬物、内部および総硫酸とアンモニウム濃度、ヒスチジン濃度、シヨ糖濃度といったリポソームの組成を測定する。薬物/脂質含有比および薬物封入率をリポソーム組成値から計算する。	PEG脂質:ピクリン酸試薬発色法 3種類の脂質含量:蒸発光散乱検出器-HPLC分析 内部硫酸イオン濃度:シリンジろ過とイオンクロマトグラフィーによるリポソーム外の遊離イオン濃度と総イオン濃度の測定から算出 内部アンモニウムイオン濃度:硫酸イオンと同様に、遊離イオン濃度と総イオン濃度から算出
薬物封入状態	DOXIL中のドキソルピシンは、大部分がリポソーム内でドキソルピシン硫酸塩の状態で沈殿形成している。後発製剤はリポソーム内で同様のドキソルピシンの沈殿を形成してはいなければならない。	吸光度変化(470/550nm)や蛍光測定 X線回折 低温透過電子顕微鏡法
内部環境(容積、pH、硫酸およびアンモニウムイオン濃度)	容積やpH、硫酸およびアンモニウム濃度といったリポソームの内部環境がドキソルピシンの沈殿した状態を保持している。構成成分の総量と遊離濃度からリポソーム内部の濃度を推定してもよい。	各成分の総濃度と遊離濃度から内部濃度を算出
リポソームの形態・ラメラの枚数	薬物封入、薬物保持、さらには薬物放出率はラメラ構造の程度に影響されやすいため、リポソームの形態やラメラ構造は測定すべきである。	透過電子顕微鏡法 <sup>31</sup> P-NMR 低温電子顕微鏡法 原子間力顕微鏡法
脂質二重膜の相転移	脂質二重膜の相転移の同等性は、脂質二重膜の流動性と均一性の証明に有効である。脂質添加物やリポソームの相転移プロファイルは標準製剤と類似であること。	示差走査熱量測定法
リポソームの粒子径分布	粒子径分布は受動ターゲティングの同等性を保証する上で重要である。標準製剤と試験製剤の粒径を比較するために適切な粒子径測定法を選択すべきである。測定するバイアル数は少なくとも各バッチ10バイアル、総数30バイアル以上で行うべきである。	動的光散乱法(DLS) 静的光散乱法と流動場分離法 サイズ排除クロマトグラフィー DLSとサイズ排除クロマトグラフィー 電子顕微鏡 フローサイトメトリー 低温電子トモグラフィー
リポソーム表面のPEG	リポソーム表面をmethoxy polyethylene glycolで覆うことで、単核食細胞系による貪食から回避され、血中滞留時間が延長する。PEG層の厚さは熱力学的に制限され、数ナノメートル程度であると推測されている。PEG層の厚さを測定すべきである。	表面電位測定によるリポソーム表面固定水和層の評価 NMR分光法によるPEG脂質の定量と局在解析
表面電位・電荷	表面電荷はクリアランス、組織分布、および細胞取込みに影響を及ぼす。リポソームの表面電荷を測定すべきである。	電気泳動法
In vitro漏出率	脂質二重膜や封入されたドキソルピシンの物理的状態を明確にするためのin vitro薬物漏出試験は、様々な生理条件下において制御されない薬物漏出が無いこと、ガン細胞への薬物送達と同程度であることを裏付けるために実施する。	別表参照

表6 リポソーム製剤ドラフトガイダンスで推奨された品質管理に重要な物理化学的性質

特性	企業からのコメント
リポソームの形態・ラメラ	電子顕微鏡分析では、観察できる視野に限りがある上、サンプル調製操作によってアーチファクトが生じやすい。現在のところ、適切にラメラ構造を量的に測定できる方法はなく、品質評価において信頼性のあるパラメーターではない。
正味荷電	正味荷電を直接測定することはできない。ゼータ電位と表面電荷密度との関連性を解釈するのは難しい。ゼータ電位の測定はイオン強度に大きく影響し、特に表面荷電の弱いリポソームでは、再現性が得られない。血中では血漿タンパクと相互作用してアニオン性になる。品質評価において、測定する意義があまりない。
内包体積	重要な特性ではなく、信頼性も実用性もないパラメーターである。脂溶性薬物の場合は関連性がなく、重要な特性ではない。RIを使うことで封入体積を見積もることは技術的に可能であるが、医薬品ロットの封入体積を評価できる方法は無い。粒子径や薬物内封率から予測される内包体積よりも有益な情報は得られない。
粒子径（平均・分布）	平均粒子径は1 $\mu$ m以下の粒子に対しては動的光散乱、大きな粒子はレーザー回折によって測定される。両方の方法から粒子分布プロファイルの情報は得られるが、再現性はあまり良くない。流動場分離やキャピラリー流体力学的分画といった方法が研究段階にあり、リポソームの特性解析に有効な方法が提供されると期待される。しかし、今のところ、確実かつ再現性良く粒子径分布を測定できる品質管理の方法は構築されていない。
相転移温度	相転移温度はDSCによって再現性良く測定できるが、複合脂質混合物の場合、相転移温度は複雑で解釈が難しい。薬物が脂質二重膜と相互作用している場合、さらに複雑になる。多くのリポソームに対して測定意義が限られている。
In vitro薬物放出性	ロット間変動を見るのに有用であるが、識別性と再現性のある方法を設定するのは難しい。リポソームによっては、血清や生理的緩衝液中で加温しても、殆ど薬物が放出されない。さらにin vitro放出試験とin vivoの挙動との相関性を示すのは困難である。
分光分析データ	分光分析データから決定される物理化学的性質を具体的に示して欲しい。さらなる定義が必要である。
浸透圧特性	通常の浸透圧特性を意味しているのか、他の目的があるのか明確にする必要がある。リポソーム製剤の浸透圧特性ならば、関係する浸透圧環境（点滴溶液や血漿）における粒子径や放出性の評価に焦点を合わせるべきである。
光散乱指数	この測定は濁度の変化を示し、安定性試験中に時間とともに製剤がどのくらい変化するか評価するのに有効である。濁度の変化を正確に解釈するのは難しいが、長期保存中のリポソーム製剤において凝集・結晶化が起きていることを示す。日常的な検査に加えられるかもしれないし、リポソーム濃度と対応する場合、ロット間の一貫性を評価するのに有用かもしれない。

表7 In vitro薬物漏出条件

In vitro薬物漏出条件	試験の目的	条件設定の理由
50%ヒト血漿中で37°C24時間	血液循環系におけるリポソームの安定性評価	血漿は最も血中の条件に近い
pH 5.5, 6.5, 7.5緩衝液中で37°C24時間	正常組織、ガン細胞周辺、ガン細胞内部の状態を模倣する	正常組織：pH 7.3；ガン組織：pH 6.6；ガン細胞内部(エンドソームとリソソーム)：pH 5 - 6(ガン細胞のエンドソームとリソソームはリポソームの取込みと薬物放出に関与していると考えられる)
pH 6.5緩衝液中、温度範囲(43、47、52、57°C)で12時間、あるいは完全に放出するまで	脂質二重膜の完全性評価	脂質の相転移温度(T <sub>m</sub> )は脂質二重膜の強度、硬さ、化学組成で決定される。T <sub>m</sub> 上下における放出の温度依存性は、脂質特性の小さな差を反映する
37°Cにおける低周波数超音波(20kHz)照射2時間、あるいは完全に放出するまで	リポソーム中に封入された薬物の状態を評価	低周波数超音波は一過性に穴のような欠陥を導入することで脂質二重膜を崩壊させ、リポソーム内部のゲルの溶解によって制御されたドキシソルピシン放出を促す

*Contains Nonbinding Recommendations*  
**Draft Guidance on Doxorubicin Hydrochloride**

This draft guidance, once finalized, will represent the Food and Drug Administration's (FDA's) current thinking on this topic. It does not create or confer any rights for or on any person and does not operate to bind FDA or the public. You can use an alternative approach if the approach satisfies the requirements of the applicable statutes and regulations. If you want to discuss an alternative approach, contact the Office of Generic Drugs.

**Active ingredient:** Doxorubicin Hydrochloride

**Form/Route:** Liposome injection/Intravenous

**Recommended studies:** 2 Studies

When the test and reference pegylated liposome products

- have the same drug product composition and
- are manufactured by an active liposome loading process with an ammonium sulfate gradient and
- have equivalent liposome characteristics including liposome composition, state of encapsulated drug, internal environment of liposome, liposome size distribution, number of lamellar, grafted PEG at the liposome surface, electrical surface potential or charge, and in vitro leakage rates.

---

The following clinical and in vitro studies are recommended to demonstrate bioequivalence:

**Clinical Study:**

1. Type of study: Fasting\*

Design: Single-dose, two-way crossover *in vivo*

Strength: 50 mg/vial

Dose: 50 mg/m<sup>2</sup>

Subjects: Ovarian cancer patients whose disease has progressed or recurred after platinum-based chemotherapy.

Additional Comments: Patients who have a history of hypersensitivity reactions to a conventional formulation of doxorubicin HCl or the components of Doxil should not be entered into the study. Females should not be pregnant or lactating. Other exclusion criteria include: total cumulative dose of doxorubicin HCl approaches 550 mg/m<sup>2</sup>; patient is < 18 years of age or > 75 years of age; active opportunistic infection with mycobacteria, cytomegalovirus, toxoplasma, P. carinii or other microorganism if under treatment with myelotoxic drugs; clinically significant cardiac, liver or kidney disease.

\* If the health conditions of patients prevent fasting, the sponsor can provide a non-high-fat diet during the proposed study. Alternatively, the treatment can be initiated 2 hours after a standard (non-high-fat) breakfast.

**Analytes to measure (in appropriate biological fluid):** Free doxorubicin and liposome encapsulated doxorubicin.

**Bioequivalence based on (90% CI):** AUC and C<sub>max</sub> for free doxorubicin and liposome encapsulated doxorubicin.

Note: the pivotal bioequivalence study should be conducted using test product produced by the proposed commercial scale manufacturing process.

Note: as doxorubicin is a cytotoxic drug, a Bio-IND is required for bioequivalence studies of doxorubicin liposome injection to ensure that proposed generic products are safe for use in human test subjects and do not expose them to undue risk.

---

#### **In Vitro Study:**

2. Type of study: Liposome Size Distribution  
Design: in vitro bioequivalence study on at least three lots of both test and reference products

**Parameters to measure:**  $D_{10}$ ,  $D_{50}$ ,  $D_{90}$

**Bioequivalence based on (95% CI):** Population bioequivalence based on  $D_{50}$  and SPAN ( $(D_{90} - D_{10})/D_{50}$  or polydispersity index.

---

#### **Dissolution test method and sampling times:**

Please note that a **Dissolution Methods Database** is available to the public at the OGD website at <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/>. Please find the dissolution information for this product at this website. Please conduct comparative dissolution testing on 12 dosage units each of all strengths of the test and reference products. Specifications will be determined upon review of the application.

#### **Additional information:**

##### ***Same drug product composition***

Being a parenteral drug product, a generic doxorubicin HCl liposome injection must be qualitatively and quantitatively the same as the RLD, except differences in buffers, preservatives and antioxidants provided that the applicant identifies and characterizes these differences and demonstrates that the differences do not impact the safety/efficacy profile of the drug product. Currently, FDA has no recommendations for the type of studies that would be needed to demonstrate that differences in buffers, preservatives and antioxidants do not impact the safety/efficacy profile of the drug product.

Lipid excipients are critical in the liposome formulation. ANDA sponsors should obtain lipids from the same category of synthesis route (natural or synthetic) as found in the RLD. Information concerning the chemistry, manufacturing and control of the lipid components should be provided at the same level of detail expected for a drug substance as suggested in the liposome drug products draft guidance<sup>1</sup>. ANDA sponsors should have specification on lipid excipients that are similar to those used to produce the RLD. Additional comparative characterization (beyond meeting specifications) of lipid excipients including the distribution of the molecular species should be provided.

##### ***Active liposome loading process with an ammonium sulfate gradient***

In order to meet the compositional equivalence and other equivalence tests, an ANDA sponsor would be expected to use an active loading process with an ammonium sulfate gradient. The major steps include 1) formation of liposomes containing ammonium sulfate, 2) liposome size reduction, 3) creation of ammonium sulfate gradient, and 4) active drug loading. An active loading process uses an ammonium

---

<sup>1</sup> Draft guidance for industry: Liposome drug products chemistry, manufacturing, and controls; human pharmacokinetics and bioavailability; and labeling documentation, FDA (2002), <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm070570.pdf>



sulfate concentration gradient between the liposome interior and the exterior environment to drive the diffusion of doxorubicin into the liposomes<sup>2,3</sup>.

Sponsors should use a Quality by Design approach to identify critical material attributes and critical process parameters, and guide process optimization. It is recommended to identify the critical process parameters and critical material attributes by evaluating the sensitivity of liposome characteristics to changes in process parameters and attributes. The optimal values of critical process parameters should be selected based on comparison of resulting liposome characteristics to those of the RLD.

### ***Equivalent liposome characteristics***

As with other locally acting products with complex bioequivalence requirements (such as nasal sprays and inhalation products), in vitro liposome characterization should be conducted on at least three batches of the ANDA and RLD products (at least one ANDA batch should be produced by the commercial scale process and used in the in vivo bioequivalence study). Attributes that should be included in the characterization of ANDAs claiming equivalence to Doxil are:

- **Liposome composition**

Liposome composition including lipid content, free and encapsulated drug, internal and total sulfate and ammonium concentration, histidine concentration, and sucrose concentration should be measured. The drug-to-lipid ratio and the percentage of drug encapsulation can be calculated from liposome composition values.

- **State of encapsulated drug**

The doxorubicin in DOXIL is largely in the form of a doxorubicin sulfate precipitate inside the liposome. The generic doxorubicin HCl liposome must contain an equivalent doxorubicin precipitate inside the liposome.

- **Internal environment (volume, pH, sulfate and ammonium ion concentration)**

The internal environment of the liposome, including its volume, pH, sulfate and ammonium concentration, maintains the precipitated doxorubicin. The measurements of total and free concentrations of components (including sulfate ions) described in liposome composition section allow the inference of the internal concentration inside the liposome.

- **Liposome morphology and number of lamellae**

Liposome morphology and lamellarity should be determined as drug loading, drug retention, and the rate of drug release from the liposomes are likely influenced by the degree of lamellarity.

- **Lipid bilayer phase transitions**

Equivalence in lipid bilayer phase transitions will contribute to demonstrating equivalence in bilayer fluidity and uniformity. The phase transition profiles of the raw lipid excipients and liposomes should be comparable to those of RLD.

- **Liposome size distribution**

Liposome size distribution is critical to ensuring equivalent passive targeting. The ANDA sponsor should select the most appropriate particle size analysis method to determine the particle size distributions of both test and reference product. The number of liposome product vials to be studied should not be fewer

---

<sup>2</sup> A. Gabizon, H. Sheemda, Y. Barenholz. Pharmacokinetics of pegylated liposome doxorubicin: review of animal and human studies. Clin Pharmacokinet 42(5): 419-436 (2003)

<sup>3</sup> F. Martin. Product evolution and influence of formulation on pharmaceutical properties and pharmacology, Advisory Committee for Pharmaceutical Science Presentation (Jul 2001), [http://www.fda.gov/ohrms/dockets/AC/01/slides/3763s2\\_08\\_martin.ppt](http://www.fda.gov/ohrms/dockets/AC/01/slides/3763s2_08_martin.ppt).

than 30 for each of the test and reference products (i.e., no fewer than 10 from each of three batches). See recommended study 2 (above) for details of the recommended statistical equivalence tests.

- Grafted PEG at the liposome surface

The surface-bound methoxypolyethylene glycol (MPEG) polymer coating protects liposomes from clearance by the mononuclear phagocyte system (MPS) and increases blood circulation time. The PEG layer thickness is known to be thermodynamically limited and estimated to be in the order of several nanometers. The PEG layer thickness should be determined.

- Electrical surface potential or charge

Surface charge on liposomes can affect the clearance, tissue distribution, and cellular uptake. Liposome surface charge should be measured.

- In vitro leakage under multiple conditions

In vitro drug leakage testing to characterize the physical state of the lipid bilayer and encapsulated doxorubicin should be investigated to support a lack of uncontrolled leakage under a range of physiological conditions and equivalent drug delivery to the tumor cells. Below are some examples of proposed conditions.

**Table 1. Examples of in vitro leakage conditions of doxorubicin liposomes**

<b>In Vitro Drug Leakage Condition</b>	<b>Purpose</b>	<b>Rationale</b>
At 37°C in 50% human plasma for 24 hours	Evaluate liposome stability in blood circulation.	Plasma mostly mimics blood conditions.
At 37°C with pH values 5.5, 6.5, and 7.5 for 24 hours in buffer	Mimic drug release in normal tissues, around cancer cells, or inside cancer cells	Normal tissues: pH 7.3 Cancer tissues: pH 6.6 Insider cancer cells (endosomes and lysosomes ): pH 5-6 (Endosome and lysosomes of cancer cells may be involved in liposome uptake and induce drug release).
At a range of temperatures (43°C, 47°C, 52°C, 57°C) in pH 6.5 buffer for up to 12 hours or until complete release	Evaluate the lipid bilayer integrity	The phase transition temperature (T <sub>m</sub> ) of lipids is determined by lipid bilayer properties such as rigidity, stiffness and chemical composition. Differences in release as a function of temperature (below or above T <sub>m</sub> ) will reflect small differences in lipid properties
At 37°C under low-frequency (20 kHz) ultrasound for 2 hours or until complete release.	Evaluate the state of encapsulated drug in the liposome.	Low-frequency ultrasound (20 kHz) disrupts the lipid bilayer via a transient introduction of pore-like defects and will render the release of doxorubicin controlled by the dissolution of the gel inside the liposome.

***Equivalent in vivo plasma pharmacokinetics of free and encapsulated drug***

A Bio-IND is required to conduct bioequivalence studies of doxorubicin liposome injection in humans since doxorubicin is a cytotoxic drug. We recommend single dose fasting two-way crossover bioequivalence studies in ovarian cancer patients at 50 mg/m<sup>2</sup> dose. Sponsors should measure both liposome-encapsulated and free doxorubicin to demonstrate the same in vivo stability of generic liposome formulation and RLD. The studies may be conducted under either fasted or standard diet conditions depending on patient needs. See recommended study 1 (above) for details of the recommended statistical equivalence tests.

---

# Guidance for Industry

## Liposome Drug Products

**Chemistry, Manufacturing, and Controls; Human Pharmacokinetics and Bioavailability; and Labeling Documentation**

### *DRAFT GUIDANCE*

**This guidance document is being distributed for comment purposes only.**

Comments and suggestions regarding this draft document should be submitted within 90 days of publication in the *Federal Register* of the notice announcing the availability of the draft guidance. Submit comments to Dockets Management Branch (HFA-305), Food and Drug Administration, 5630 Fishers Lane, rm. 1061, Rockville, MD 20852. All comments should be identified with the docket number listed in the notice of availability that publishes in the *Federal Register*.

For questions regarding this draft document contact Liang Zhou, (301) 827-7471.

**U.S. Department of Health and Human Services  
Food and Drug Administration  
Center for Drug Evaluation and Research (CDER)  
August 2002  
CMC**

# Guidance for Industry

## Liposome Drug Products

**Chemistry, Manufacturing, and Controls; Human  
Pharmacokinetics and Bioavailability; and Labeling  
Documentation**

*Additional copies are available from:*

*Office of Training and Communication  
Division of Drug Information, HFD-240  
Center for Drug Evaluation and Research  
Food and Drug Administration  
5600 Fishers Lane  
Rockville, MD 20857  
(Tel) 301-827-4573  
<http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>*

**U.S. Department of Health and Human Services  
Food and Drug Administration  
Center for Drug Evaluation and Research (CDER)  
August 2002  
CMC**