

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します。

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, aii in Tokyo, Japan, hiyama@nihs.go.jp. Industry is welcome to submit proposals to Q-IWG at 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,^{*,a,b} Nana KAWASAKI,^a Kiyoshi FUKUHARA,^b Haruhiro OKUDA,^b and Teruhide YAMAGUCHI^a

^aDivision of Biological Chemistry and Biologicals, National Institute of Health Sciences; and ^bDivision 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.¹ 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.^{2,3} 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),^{4,5} capillary electrophoresis (CE),⁶ mass spectrometry (MS), tandem MS (MS/MS),⁷ liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS),⁷ high-performance liquid chromatography (HPLC)⁸ and nuclear magnetic resonance (NMR), are employed to evaluate physicochemical characteristics and purity, and thus determine the quality of biopharmaceuticals.^{2,3,9,10} 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.^{11,12} 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 (D_2O , isotopic purity 99.9%) containing 0.75% 3-(trimethylsilyl)propionic-2,2,3,3- 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 (δ) 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 μl of D_2O containing 0.75% TSP, 30 μl of 0.2 M phosphate buffer (pH 6.2), and 510 μl of ultrapure water to produce a 600 μl 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

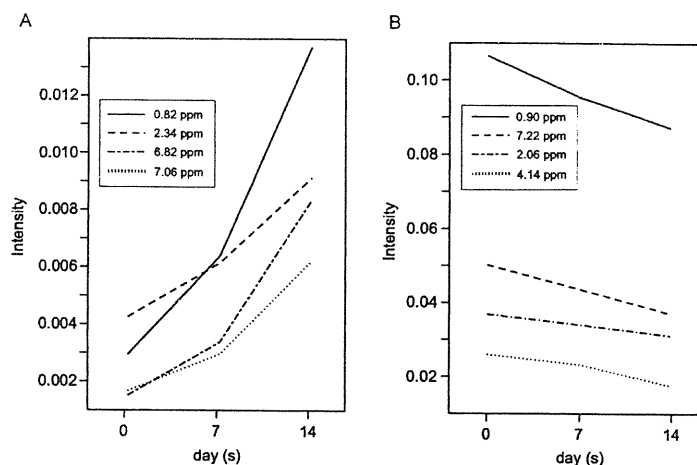


Fig. 4. Time-Dependent Changes in the OXT ^1H -NMR Spectrum Showing the Formation of New Decomposition Products (A) and the Decomposition of OXT (B)

and 4.14 ppm) is associated with larger decreases in integrated intensity over time (Fig. 4B). In addition, while the time-dependent increases in intensity for each variable in Fig. 4A are surmised to be due to new peaks from OXT decomposition products of OXT, identifying individual peaks in Fig. 1 associated with these decomposition products is difficult, as these peaks are minor signals. The peaks corresponding to these particular variables were too small to analyze further. On the other hand, peaks for each variable in Fig. 4B could be identified: the variable at 0.90 ppm was attributed to both the δH (δ 0.88) and $\gamma'\text{H}$ (δ 0.89) of Ile and to the $\delta'\text{H}$ (δ 0.90) of Leu; the variable at 7.22 ppm to the $2', 6'\text{H}$ (δ 7.22) of Tyr; the variable at 2.06 ppm to the γH (δ 2.05) of Pro and to the βH (δ 2.08) of Gln; and the variable at 4.14 ppm to the αH (δ 4.14) of Gln and to the αH (δ 4.16) of Ile. Therefore, some amino acids for each variable in Fig. 4B are inferred to be associated with OXT decomposition, although proposing a specific decomposition mechanism for OXT is difficult owing to the complexity of protein/peptide systems.

Recently biotechnology-derived drugs for medical treatment are increasingly receiving attention, but many problems associated with the quality, efficacy, and safety of biologics persist. Almost all biologics are designed to mimic human proteins to better predict pharmacological effects, and are thus produced from recombinant or non-recombinant cell-culture expression systems. Preserving the consistency of these complex products during the production is important, as well as reducing or eliminating molecular heterogeneity and higher-order structural aggregates. In addition, since raw materials derived from animals or humans may be used during production,¹⁾ consideration of possible viral contamination is also crucial. To date, the quality of manufactured biologics is evaluated by measuring biological activity of the biologics, rather than through analysis of physicochemical information. In fact, the product complexity and purity for quality control of biologics are quite difficult to evaluate by current physicochemical methodologies, such as SDS-PAGE, CE, MS, and HPLC.^{2–10)}

As a new approach for assessing the quality of biopharmaceuticals, we examined a method to distinguish time-depend-

ent changes of OXT ^1H -NMR spectra by introducing PCA of NMR signals. We initially found that simple visual inspection was insufficient to distinguish whether the three ^1H -NMR spectra of OXT, gathered every 7 d for 14 d, showed time-dependent changes. However, the PCA scores plot of these same spectra clearly revealed time-dependent changes. In addition, peak changes associated with both new decomposition products and the decomposition of OXT were also observed by the PCA loading plot. Therefore, a combination of ^1H -NMR and PCA techniques can provide a molecular fingerprint capable of precisely identifying a protein/peptide biologic, and can represent a powerful new approach for assessing the quality of protein/peptide biologic drugs. The study concerning the feasibility and the limitation of this method in terms of the molecular size is currently under way.

Acknowledgements We thank Mr. H. Watanabe and Mr. K. Kushida (Varian Technologies Japan Ltd.) for their technical assistances in measuring NMR spectra. This work was supported by a Grant-in-Aid for Scientific Research (No. 20390038) from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, Japan.

References

- 1) Schiff L. J., *In Vitro Cell Dev. Biol. Anim.*, **41**, 65–70 (2005).
- 2) Murano G., *Dev. Biol. Stand.*, **91**, 3–13 (1997).
- 3) Kemsley J. N., "Chemical & Engineering News," Vol. 87, 2009, pp. 20–23.
- 4) Silva M. M., Lamarre B., Cerasoli E., Rakowska P., Hills A., Bailey M. J., Wheeler J. X., Burns C. J., Gaines-Das R. E., Jones C., Robinson C. J., *Biologicals*, **36**, 383–392 (2008).
- 5) Faber B. W., Remarque E. J., Kocken C. H., Cheront P., Cingolani D., Xhonneux F., Jurado M., Haumont M., Jepsen S., Leroy O., Thomas A. W., *Vaccine*, **26**, 6143–6150 (2008).
- 6) Bayol A., Bristow A., Charton E., Girard M., Jongen P., *Pharmeuropa Bio*, **2004**, 35–45 (2004).
- 7) Anumula K. R., *Anal. Biochem.*, **350**, 1–23 (2006).
- 8) Royle L., Campbell M. P., Radcliffe C. M., White D. M., Harvey D. J., Abrahams J. L., Kim Y. G., Henry G. W., Shadick N. A., Weinblatt M. E., Lee D. M., Rudd P. M., Dwek R. A., *Anal. Biochem.*, **376**, 1–12 (2008).
- 9) Domann P. J., Pardos-Pardos A. C., Fernandes D. L., Spencer D. I., Radcliffe C. M., Royle L., Dwek R. A., Rudd P. M., *Proteomics*, **7 Suppl 1**, 70–76 (2007).
- 10) Wada Y., Azadi P., Costello C. E., Dell A., Dwek R. A., Geyer H., Geyer R., Kakehi K., Karlsson N. G., Kato K., Kawasaki N., Khoo K. H., Kim S., Kondo A., Lattova E., Mechref Y., Miyoshi E., Nakamura

- K., Narimatsu H., Novotny M. V., Packer N. H., Perreault H., Peter-Katalinic J., Pohlentz G., Reinhold V. N., Rudd P. M., Suzuki A., Taniguchi N., *Glycobiology*, **17**, 411–422 (2007).
- 11) Plumb R. S., Jones M. D., Rainville P. D., Nicholson J. K., *J. Chromatogr. Sci.*, **46**, 193–198 (2008).
 - 12) Barton R. H., Nicholson J. K., Elliott P., Holmes E., *Int. J. Epidemiol.*, **37 Suppl 1**, i31–i40 (2008).
 - 13) Nicholson J. K., Foxall P. J., Spraul M., Farrant R. D., Lindon J. C., *Anal. Chem.*, **67**, 793–811 (1995).
 - 14) Wold S., Albano C., Dunn W. J., Edlund U., Esbensen K., Geladi P., Hellburg S., Johansson E., Lindberg W., Sjöström M., “Chemometrics: Mathematics and Statistics in Chemistry,” D. Reidel Publishing Company, Dordrecht, 1984.
 - 15) Eriksson L., Johansson E., Kettaneh-Wold N., Wold S., “Multi- and Megavariate Data Analysis,” Umetrics Academy, Umeå, 2001.
 - 16) Holmes E., Loo R. L., Stampler J., Bictash M., Yap I. K., Chan Q., Ebbels T., De Iorio M., Brown I. J., Veselkov K. A., Davignus M. L., Kesteloot H., Ueshima H., Zhao L., Nicholson J. K., Elliott P., *Nature (London)*, **453**, 396–400 (2008).

Complete NMR analysis of oxytocin in phosphate buffer

Akiko Ohno,^{a,b*} Nana Kawasaki,^a Kiyoshi Fukuhara,^b Haruhiro Okuda^b and Teruhide Yamaguchi^a

Complete NMR analysis of oxytocin (OXT) in phosphate buffer was elucidated by one-dimensional (1D)- and two-dimensional (2D)-NMR techniques, which involve the assignment of peptide amide NH protons and carbamoyl NH₂ protons. The ¹H-¹⁵N correlation of seven amide NH protons and three carbamoyl NH₂ protons were also shown by HSQC NMR of OXT without ¹⁵N enrichment. Copyright © 2009 John Wiley & Sons, Ltd.

Supporting information may be found in the online version of this article.

Keywords: oxytocin; ¹H NMR; ¹³C NMR; ¹⁵N NMR; phosphate buffer

Introduction

Oxytocin (OXT, Fig. 1) is a neurohypophyseal peptide hormone that is known to be critical for the initiation and maintenance of uterine contractions during labor and milk ejection. OXT is a nonapeptide that is composed of a cyclic sequence of Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys with an *N*-terminal amino group and a linear Pro-Leu-Gly tripeptide with a *C*-terminal amide. The cyclic portion is heterodetic with a disulfide linkage between two cysteine residues at Cys-1 and Cys-6. OXT binds to neurophysin and the complex is stored in neurosecretory granules.^[1] Determination of the free solution conformation of OXT in water or in less polar solvents is important for elucidating its molecular mechanism of interaction with neurophysin. Previous conformational studies of OXT by nuclear magnetic resonance (NMR) have been readily performed in solvents such as dimethyl sulfoxide (DMSO)^[2–5] and have shown that the assignment of almost all of the ¹H and ¹³C resonances of OXT can be obtained in DMSO solvent.^[4,6] Furthermore, it has been reported that a conformational difference between DMSO and water greatly affected the amide NH protons.^[7] Although NMR spectra of OXT in water have been partially analyzed, there are no reports on the complete ¹H, ¹³C, and ¹⁵N resonance assignments because of the difficulty in obtaining NMR spectra sufficient for precise elucidation of the conformation of OXT.^[7,8] A phase-shift presaturation technique for water suppression by use of a NOESY pulse sequence is effective for the measurement of NMR spectra in H₂O.

Herein, we describe the complete ¹H, ¹³C, and ¹⁵N resonance assignments of OXT in phosphate buffer pH 6.2 using presaturation NOESY NMR techniques.

Results and Discussion

The ¹H NMR spectrum of OXT included seven amide NH protons, one broad triplet for Gly-9, six doublets for Tyr-2, Ile-3, Gln-4, Asn-5, Cys-6, Leu-8, and three carbamoyl NH₂ protons for Gln-4, Asn-5, Gly-9 which were clearly depicted (See Supporting Information). The assignment of protons and carbons to amino acid residues was

accomplished from the COSY, TOCSY, and HSQC data. Nitrogen signals were assigned on the basis of correlation with previously assigned protons using an HSQC (¹H-¹⁵N) experiment (Fig. 2). A series of peptide sequences was determined by analyzing a combination of correlations, NH-C(=O) and/or C(=O)-CH, from the HMBC experimental data (Table 1). The ¹H, ¹³C, and ¹⁵N NMR parameters, chemical shifts, coupling constants, and temperature coefficients for amide NH protons are summarized in Table 1.

The ¹³C NMR assignments of the protonated carbons were obtained from the proton-detected heteronuclear HSQC spectrum together with the HMBC experiment correlated for long-range proton spectra for the nonprotonated carbons (See Supporting Information). In the HMBC spectrum, the CO of Cys-1 at 174.4 ppm was correlated to both the α H and β H of Cys-1 and to the NH of Tyr-2, the CO of Tyr-2 at 175.9 ppm to the β H of Tyr-2 and to both the α H and NH of Ile-3, the CO of Ile-3 at 176.0 ppm to both the α H and NH of Ile-3 and to the NH of Gln-4, the CO of Gln-4 at 176.1 ppm to the α H, β H and NH of Gln-4 and to the NH of Asn-5, the δ CO of Gln-4 at 180.6 ppm to the β H, γ H and δ NH₂ of Gln-4, the CO of Asn-5 at 174.7 ppm to the β H of Asn-5 and to the NH of Cys-6, the γ CO of Asn-5 at 177.6 ppm to both the β H and γ NH₂ of Asn-5, the CO of Cys-6 at 172.6 ppm to the β H of Cys-6 and to both the α H and δ H of Pro-7, the CO of Pro-7 at 177.2 ppm to both the α H and β H of Pro-7 and to both the α H and NH of Leu-8, the CO of Leu-8 at 178.2 ppm to both the α H and β H of Leu-8 and to both the α H and NH of Gly-9, and finally the CO of Gly-9 at 177.0 ppm with the α H, C(=O)NH₂ of Gly-9. These results indicated that the ¹³C NMR assignments of the carbonyl carbon in a peptide bond could distinguish between the cyclic region of

* Correspondence to: Akiko Ohno, Division of Biological Chemistry and Biologicals, and Division of Organic Chemistry National Institute of Health Sciences, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan. E-mail: ako-ohno@nih.go.jp

^a Division of Biological Chemistry and Biologicals, National Institute of Health Sciences, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

^b Division of Organic Chemistry, National Institute of Health Sciences, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

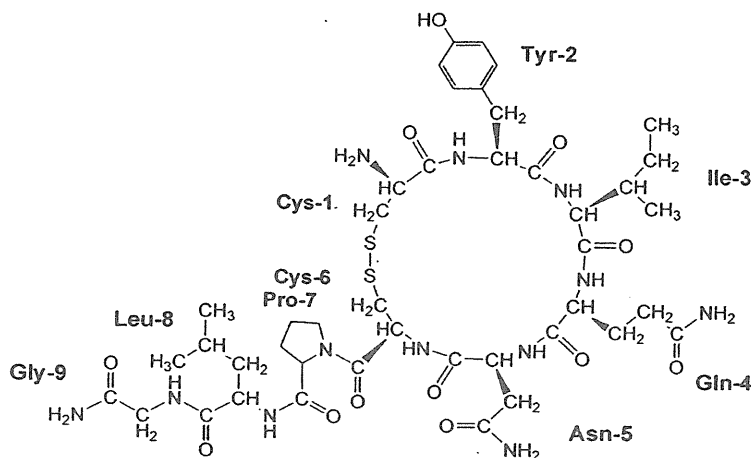
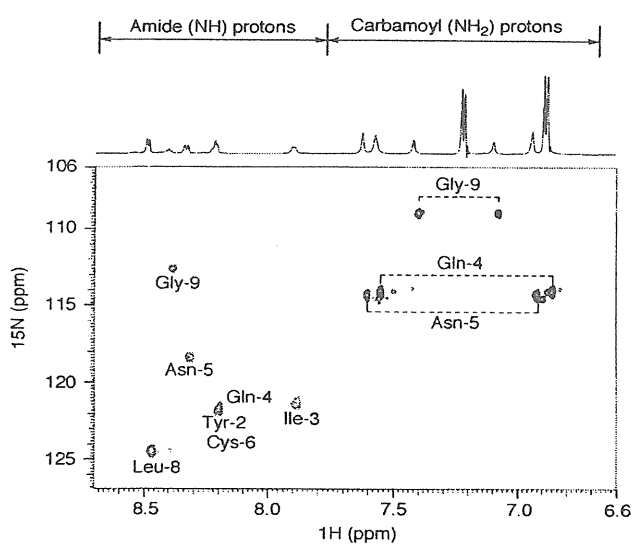


Figure 1. Structure of OXT.

Figure 2. The amide and amine region of the 600-MHz ^1H - ^{15}N HSQC NMR spectrum of OXT in 10-mM phosphate buffer pH 6.2 at 298 K.

the sequence Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys, 172.6–176.1 ppm and the noncyclic region of Pro-Leu-Gly, 177.0–178.2 ppm.

The signals of the amide NH and the amine NH_2 protons of OXT are assigned in accordance with the vicinal couplings determined from the COSY and correlation with the neighboring carbon by HMBC (^1H - ^{13}C). As the direct measurement of ^{15}N NMR without

using OXT enriched by ^{15}N is very difficult because of insufficient sensitivity, assignments of ^{15}N of OXT were performed on the basis of correlations with amide and amino protons assigned by HMBC (^1H - ^{13}C). Thus, the seven amide ^{15}N , Tyr-2 at 122.2 ppm, Ile-3 at 121.4 ppm, Gln-4 at 121.7 ppm, Asn-5 at 118.4 ppm, Cys-6 at 122.2 ppm, Leu-8 at 124.7 ppm and Gly-9 at 112.7 ppm, and the three carbamoyl ^{15}N , Gln-4 at 114.1 ppm, Asn-5 at 114.3 ppm and Gly-9 at 108.9 ppm, were assigned as shown in Fig. 2. The relative stereochemistry of OXT was elucidated from the NOE data determined by a ROESY experiment (Fig. 3). In the ROESY experiment, the 2', 3', 5', 6'H of Tyr-2 gave correlations with the δNH_2 of Gln-4, the βH of Tyr-2 with the βH of Ile-3, the βH of Ile-3 with the γH of Gln-4, the βH , γH of Pro-7 with the γNH_2 of Asn-5, and the αH of Pro-7 with the NH of Leu-8, respectively. The results of NOE cross-peak patterns in phosphate buffer are different from that in DMSO solution suggesting that the conformation of OXT is different between phosphate buffer and DMSO solution.^[6]

The thermal coefficient values, $\Delta\delta\text{NH}/\Delta\text{T}$, for peptide amide proton resonances, which offer information about contributions of amide protons to hydrogen bonds, were obtained from the shift variations occurring when the temperature was increased from 25 to 40 °C (Table 1). Among the $\Delta\delta\text{NH}/\Delta\text{T}$ values calculated, Tyr-2 (−4.0 ppb/K), Ile-3 (−6.0 ppb/K), Gln-4 (−6.0 ppb/K), Asn-5 (−4.0 ppb/K), Cys-6 (−4.0 ppb/K), Gly-9 (−6.0 ppb/K) displayed low thermal shift variations, whereas a high value of $\Delta\delta\text{NH}/\Delta\text{T}$ was found for Leu-8 (−12.0 ppb/K). In particular, the lower $\Delta\delta\text{NH}/\Delta\text{T}$ for Tyr-2, Asn-5, and Cys-6 strongly suggests that their NH could form energetically favorable intramolecular hydrogen bonds in the adoption of a β -turn. The stabilization by hydrogen bonds between the NH of Tyr-2 with the CO of Asn-5, the NH of

Table 1. ^1H , ^{13}C and ^{15}N NMR data for OXT in 10-mM phosphate buffer pH 6.2 at 298 K

Residue/parameter ^a	δ_{H}	m	J (Hz)	δ_{C}	δ_{N}	HMBC correlations with H
Cys-1						
CO	—			174.4	—	Cys-1 α , βH ; Tyr-2 NH
α CH	3.98	m		56.1	—	
β CH ₂	3.17	dd	14.3, 4.7	43.9	—	
	3.29	dd	14.3, 7.1	—	—	

Table 1. (Continued)

Residue/parameter ^a	δ_H	m	J (Hz)	δ_C	δ_N	HMBC correlations with H
Tyr-2						
NH ($\Delta\delta_{NH}/\Delta T$)	8.23 (–4.0)	d	6.9	–	122.2	
CO	–			175.9	–	Tyr-2 β H; Ile-3 α H, NH
α CH	4.85			58.1	–	
β CH ₂	2.98	m		39.1	–	
	3.22	dd	13.8, 6.2	–	–	
1'	–			130.9	–	
2'6'	7.22	d	8.4	133.4	–	
3'5'	6.88	d	8.4	118.5	–	
4'	–			157.5	–	
Ile-3						
NH ($\Delta\delta_{NH}/\Delta T$)	7.88 (–6.0)	d	6.0	–	121.4	
CO	–			176.0	–	Ile-3 α H, NH; Gln-4 NH
α CH	4.16			62.5	–	
β CH	1.95	m		39.0	–	
γ CH ₂	1.05	m		27.3	–	
	1.25	m		–	–	
γ' CH ₃	0.89	d	7.1	17.8	–	
δ CH ₃	0.88	t	7.5	13.6	–	
Gln-4						
NH ($\Delta\delta_{NH}/\Delta T$)	8.21 (–6.0)	d	4.6	–	121.7	
CO	–			176.1	–	Gln-4 α , β H, NH; Asn-5 NH
α CH	4.13	m		58.0	–	
β CH ₂	2.08	m		28.7	–	
γ CH ₂	2.41	m		34.0	–	
δ CO	–			180.6	–	Gln-4 β , γ H, δ NH ₂
δ NH ₂	6.88	br. s		–	114.1	
	7.57	br. s		–	–	
Asn-5						
NH ($\Delta\delta_{NH}/\Delta T$)	8.33 (–4.0)	d	8.2	–	118.4	
CO	–			174.7	–	Asn-5 β H; Cys-6 NH
α CH	4.75	m		53.4	–	
β CH ₂	2.86	t	7.2	38.6	–	
γ CO	–			177.6	–	Asn-5 β H, γ NH ₂
γ NH ₂	6.93	br. s		–	114.3	
	7.62	br. s		–	–	
Cys-6						
NH ($\Delta\delta_{NH}/\Delta T$)	8.23 (–4.0)	d	6.9	–	122.2	
CO	–			172.6	–	Cys-6 β H; Pro-7 α , δ H
α CH	4.85			54.5	–	
β CH ₂	2.98	m		41.5	–	
	3.26	dd	11.8, 3.4	–	–	
Pro-7						
CO	–			177.2	–	Pro-7 α , β H; Leu-8 α H, NH
α CH	4.46	m		63.5	–	
β CH ₂	1.95	m		32.1	–	
	2.31	m		–	–	
γ CH ₂	2.05	m		27.5	–	
δ CH ₂	3.71	m		50.7	–	
	3.77	m		–	–	
Leu-8						
NH ($\Delta\delta_{NH}/\Delta T$)	8.49 (–12.0)	d	6.5	–	124.7	
CO	–			178.2	–	Leu-8 α , β H; Gly-9 α H, NH
α CH	4.32	m		55.6	–	

Residue/parameter ^a	δ_{H}	m	J (Hz)	δ_{C}	δ_{N}	HMBC correlations with H
β CH ₂	1.61	m		42.2	–	
	1.67	m			–	
γ CH	1.70	m		27.1	–	
δ CH ₃	0.96	d	6.2	25.0	–	
δ' CH ₃	0.90	d	6.2	23.5	–	
Gly-9						
NH ($\Delta\delta\text{NH}/\Delta T$)	8.41 (–6.0)	br. t		–	112.7	
CO	–			177.0	–	Gly-9 α H, CONH ₂
α CH ₂	3.88	dd	17.2, 5.0	45.1	–	
	3.95	dd	13.6, 5.0	–	–	
CONH ₂	7.10	br. s		–	108.9	
	7.42	br. s		–	–	

^a The temperature coefficients, $\Delta\delta\text{NH}/\Delta T$, are given in ppb/K.

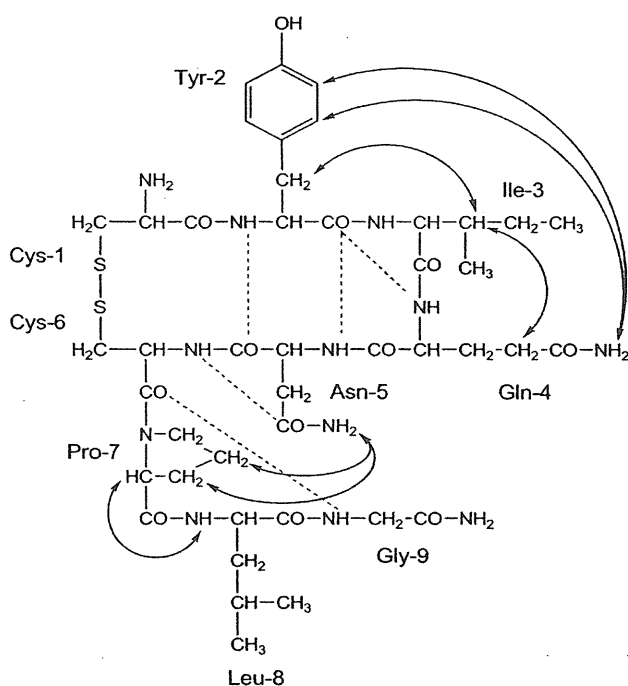


Figure 3. Hydrogen bonds (dotted lines) and ROESY (H ↔ H) correlations observed for OXT.

Asn-5 with the CO of Tyr-2, and the NH of Gly-9 with the CO of Cys-6 closely resemble results from the X-ray crystal structure of deamino-oxytocin (1 β -mercapto-propionate oxytocin).^[9,10] Two hydrogen bonds, the NH of Tyr-2 with the CO of Asn-5 and the NH of Asn-5 with the CO of Tyr-2, correspond to those of OXT in DMSO solution.^[6]

In conclusion, NMR analysis of OXT in phosphate buffer pH 6.2 using presaturation NOESY NMR techniques was effective and resulted in complete assignments of ¹H, ¹³C, and ¹⁵N NMR spectra including ¹H and ¹⁵N of amide and amino groups. In the case of OXT without ¹⁵N enrichment, ¹H–¹⁵N HSQC NMR has proven to be a useful spectral tool to determine ¹⁵N of amide and amine

groups by means of correlation with their ¹H assigned by COSY and HMBC. These findings will be helpful in solution studies for the optimum conformational analysis at the receptor.

Experimental

Chemicals and reagents

All reagents used for one-dimensional (1D)- and two-dimensional (2D)-NMR experiments were purchased from Wako Chemicals, were of analytical grade (purity > 99%), and were used without further purification. Deuterium oxide (D₂O, isotopic purity 99.9%) containing 0.75% TSP (3-(trimethylsilyl) puropionic-2,2,3,3-*d*₄ acid, sodium salt) was purchased from Aldrich (St Louis, MO). TSP was used as an internal standard at a chemical shift (δ) of 0.0 ppm for ¹H NMR measurements.

Sample preparation and ¹H NMR spectroscopic analysis

OXT (5 mg) was dissolved in 60 μ l of D₂O containing 0.75% TSP, 30 μ l of 0.2 M phosphate buffer (pH 6.2), and 510 μ l of ultrapure water to produce a 600 μ l solution for NMR measurements. The sample was introduced into an NMR test tube, and one-dimensional ¹H NOESY spectra were recorded at 298 K using a Varian 600 MHz NMR spectrometer equipped with a coldprobe (¹H at 600 MHz; ¹³C at 150.9 MHz frequency). 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 water resonance was suppressed by presaturation during the first increment of the NOESY pulse sequence, with irradiation occurring during the 2.0 s relaxation delay and also during the 100 ms mixing time. Prior to Fourier transformation (FT), the FIDs were zero-filled to 128 K and an exponential line broadening factor of 0.5 Hz was applied. The pulse conditions were as followed: for the ¹H NMR spectrum, spectrometer frequency (SF) 599.76 MHz, acquisition time (AQ) 4.000 s, number of transients (NS) 32, receiver gain (RG) 24, temperature (TE) 298 K, dwell time (DW) 104 μ s, dummy scan (DS) 2, pulse width (PW) 8.7 μ s; for the ¹³C NMR spectrum, SF 150.82 MHz, AQ 1.300 s, NS 61440, RG 30, TE 298 K, DW 27.2 μ s, PW 6.6 μ s; for the COSY spectrum, SF 599.76 MHz, AQ 0.142 s, NS 16, RG 10, TE 298 K, DW 138.4 μ s, DS 16, PW 7.4 μ s; for the TOCSY

spectrum, SF 599.76 MHz, AQ 0.174 s, NS 256, RG 8, TE 298 K, DW 169.6 μ s, DS 16, PW 7.4 μ s; for the ROESY spectrum, SF 599.76 MHz, AQ 0.160 s, NS 192, RG 8, TE 298 K, DW 156.0 μ s, PW 7.4 μ s, DS 32; for the HMBC spectrum, SF 599.76 MHz, AQ 0.128 s, NS 128, RG 24, TE 298 K, DW 159.2 μ s, DS 32; for the ^1H - ^{13}C HSQC spectrum, SF 599.76 MHz, AQ 0.199 s, NS 320, RG 24, TE 298 K, DW 172.0 μ s, PW 7.4 μ s, DS 32; and for the ^1H - ^{15}N HSQC spectrum, SF 599.76 MHz, AQ 0.199 s, NS 400, RG 8, TE 298 K, DW 169.6 μ s, PW 7.4 μ s, DS 32. Temperature coefficients of amide NH protons were obtained from a series of ^1H NMR spectra measured in the range 298 to 313 K. An assignment of the ^1H , ^{13}C , and ^{15}N spectra of OXT was determined by the combination of 1D- and 2D-NMR studies.

Acknowledgements

This work was supported by a *Grant-in-Aid for Scientific Research* (No. 20390038) from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, Japan.

Supporting information

Supporting information may be found in the online version of this article.

References

- [1] B. Walse, J. Kihlberg, T. Drakenberg, *Eur. J. Biochem.* **1998**, *252*, 428.
- [2] A. Ballardin, A. J. Fischman, W. A. Gibbons, J. Roy, I. L. Schwartz, C. W. Smith, R. Walter, H. R. Wyssbrod, *Biochemistry* **1978**, *17*, 4443.
- [3] R. Bhaskaran, L. C. Chuang, C. Yu, *Biopolymers* **1992**, *32*, 1599.
- [4] T. Kato, S. Endo, T. Fujiwara, K. Nagayama, *J. Biomol. NMR* **1993**, *3*, 653.
- [5] A. Wittelsberger, L. Patiny, J. Slaninova, C. Barberis, M. Mutter, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 6553.
- [6] M. Budesinsky, Z. Prochazka, J. Slaninova, *Protein Pept. Lett.* **2005**, *12*, 343.
- [7] J. D. Glickson, R. Rowan, T. P. Pitner, J. Dadok, A. A. Bothner-By, R. Walter, *Biochemistry* **1976**, *15*, 1111.
- [8] J. Feeney, G. C. Roberts, J. H. Rockey, A. S. Burgen, *Nat. New. Biol.* **1971**, *232*, 108.
- [9] J. Husain, T. L. Blundell, S. Cooper, J. E. Pitts, I. J. Tickle, S. P. Wood, V. J. Hruby, A. Buku, A. J. Fischman, H. R. Wyssbrod, Y. Mascarenhas, *Philos. Trans. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci.* **1990**, *327*, 625.
- [10] S. P. Wood, I. J. Tickle, A. M. Treharne, J. E. Pitts, Y. Mascarenhas, J. Y. Li, J. Husain, S. Cooper, T. L. Blundell, V. J. Hruby, *Science* **1986**, *232*, 633.

《イントロダクション》

ICH ガイドライン (Q8, Q9, Q10) の実践の展望について†

檜 山 行 雄 * Yukio Hiyama
国立医薬品食品衛生研究所

《イントロダクション》

ICH ガイドライン (Q8, Q9, Q10) の実践の展望について†

檜 山 行 雄* Yukio Hiyama
 国立医薬品食品衛生研究所

医薬品規制調和国際会議 (ICH: International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use) により最近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主論点を概説する。又, 3つのガイドラインの実践を推進する ICH IWG (Implementation Working Group) の活動を紹介する。IWG の課題の中からリアルタイムの品質管理の意義を考えてみる。

1. ICH の経緯

『優れた新薬は患者の手にすみやかにわたるべきである。しかし, 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この目的の障害になっている。』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¹⁾。これまでに, 有効性 (E: Efficacy), 安全性 (S: Safety), 品質 (Q: Quality) の3分野

* 昭和54年東京大学大学院工業化学博士課程修了。米国イリノイ大学, NIH 研究員を経て米国アップジョンに勤務。平成14年4月より国立衛研薬品部室長。ICH Q9, Q10 厚生労働省トピックリーダー。

連絡先: 〒158-8501 東京都世田谷区上用賀 1-18-1
 E-mail: hiyama@nihs.go.jp

†本稿は「医薬品の品質のためのガイドライン ICH Q8 及び Q9 について」, ファルマシア, Vol. 43, 337-342 (2007) に加筆修正したものである。

で約60のガイドラインが作成され規制の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, 医薬品品質保証の将来のあるべき姿を考え, 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。厚生労働省は, 改正薬事法下における品質関連規制の概説をするとともに, 経営者責任, 技術移転などの新しい項目を取り込んだ品質保証体制の構築 (図1) を提案した。会議は“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: Pharmaceu-

2003年7月ブラッセル厚生労働省スライド15/15

MHLW's Expectation to ICH

Comprehensive approach for quality management

- ⊗ Throughout the product life cycle
 - From development to post-marketing
- ⊗ Includes;
 - Risk management
 - Technology transfer
 - Change control, etc.

図1 2003年 ICH GMP ワークショップにおける厚生労働省代表の講演スライドの一部

tical Development)と品質リスクマネジメント(Q9: Quality Risk Management)を新たなトピックにとりあげてを合意し、段階的にビジョン達成をめざすこととなった。

2年をかけQ8, Q9の二つのガイドラインが作成され、我が国では平成18年9月に厚生労働省より通知された。この間、以下のような意見が出され活発な議論が行われた。

1) 現在、世界的に行政と企業の間には相互不信があるのではないか。これを解決するためにICHなどの場で積極的なコミュニケーションを図るべきだ。この議論のベースはリスクマネジメントと科学である。

2) 医薬品の製造プロセスは他の産業のそれと比較し遅れが目立つ。この理由には、規制による妨げ、開発スピードの要求により本質的な“品質”がおろそかになったことが考えられる。

3) 製造工程管理の重要点は変動を管理することが本質である。今までGMPでは逸脱管理の名のもとに異常事態、異常値に対する special cause だけが追跡される傾向があったが、実際には special cause による逸脱はほとんどなく、開発研究が不十分なため通常の変動要因 (normal cause) に対する解析がおろそか過ぎたのではないか。

4) さまざまな新分析法を応用したデータとりがここ1~2年で行われた。その結果、想定していた以上に、今までの製造工程におけるブラックボックスが理解され、次々にきめ細かいプロセス管理法が採用されつつある。このような動きを規制側は支援すべきである。

この後、ISOの品質マネジメントの概念を基に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。さらに、これらの三つのガイドラインに基づく品質システムの運営を推進するためIWGが2008年6月に編成され、Q&A、教育資料作成を開始した。

2. ICH Q8 製剤開発ガイドラインの主論点

ガイドラインの構成は目的、適用範囲、製剤成分(原薬、添加剤)、製剤(製剤設計、過量仕込み、物理的・化学的性質及び生物学的性質)、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、用語で合計8ページと簡潔にまとめられている。又、『QbD (Quality by Design)』、『デザインスペース』という新しい概念が導入されている。

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。ガイドラインの意図は、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つたが、審査に用いるだけではなく、GMP査察官へ対する情報提供も目的とすることとなった。

このガイドラインでは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(異なる操作条件、異なる製造スケールまたは異なる装置を用いた場合の製造工程の性能など)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。

新しい概念として導入された『QbD (Quality by Design)』は、『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。』という考え方である。一方『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。

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。

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と補遺としての 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。また、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。

3. ICH Q9 品質リスクマネジメントガイドライン

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、参照文献である。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。

序文において、“リスクマネジメントとは『リスクのアセスメント、コントロール、コミュニケーション、レビューの各作業に対し、品質マネジメントの方針、手順、実施を系統立てて適用すること』であ

り、多くの産業活動や行政活動、及びこれらの企業を規制管轄する機関において有効に活用されている。製薬企業においても品質システムの重要性は認識されてきており、リスクマネジメントは、効果的な品質システムにおける重要な構成要素であるということが明らかになりつつある。しかし、医薬品の品質分野ではリスクマネジメントが十分に適用されていない。このため、医薬品品質のためのリスクマネジメントの定義、典型的なプロセスを示し、品質リスクマネジメントの体系的なアプローチを提供することである。”と現状認識およびガイドラインの目的を述べている。

具体的な適用範囲としては原料、溶剤、添加剤、包装および表示材料を含み、医薬品原薬、製剤、生物起源由来医薬品、及びバイオテクノロジー応用医薬品における開発、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。これに答えるため 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²⁾。又、ガイドラインの作成の過程については文献³⁾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。

4. ICH Q10 医薬品品質システムガイドラインの概略

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、Q10 ガイドラインは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：ICHQ8，原薬：ICHQ11）と生産工場間の知識の共有などが内容となっている。

ガイドラインの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、システム設計上の考慮点を列挙し、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流れる章立てをしている。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、ICH Q8, Q9, 並びに Q10 を実践した場合、例えば「プロセスバリデーションへの革新的な取り組みを可能とする」ことなどが列挙されている。

医薬品品質システムモデルの理解を助けるために図（図2）が示されている。図の上段に示すとおり、医薬品開発、技術移転、商業的製造及び製品の終結の全ての製品ライフサイクル段階を適用範囲としている。医薬品品質システムは、図に示すようにICH各極のGMPを補強する。また、各極のGMPが治験薬にも適用されることを示している。次の横枠は、経営陣の責任が製品ライフサイクルの全ての段階に対して重要であることを示している。その下の横枠は、医薬品品質システムにおいて中核をなす要素を列挙している。一番下の横枠は、ライフサイクルの各段階を通じて適用される、達成のための手法、すなわち知識管理と品質リスクマネジメントを図示している。これらの達成のための手法は、製品実現の達成、管理できた状態の確立並びに維持、及び継続的改善の促進という、医薬品品質システムの目的を

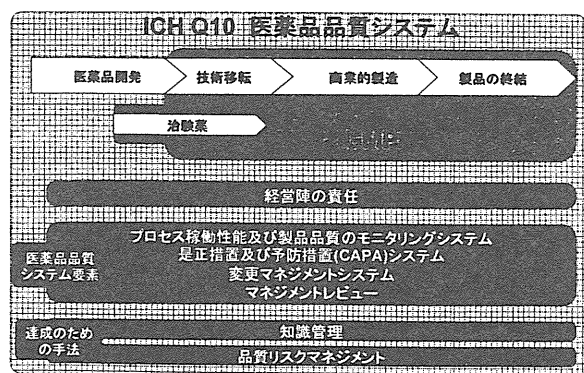


図2 ICH Q10 医薬品品質システムモデルの図解

支援するものである。

「ICHQ10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。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へ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。

5. 三つのガイドラインの役割とICH Q IWGの活動

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、付属文書II3『開発におけるリスクマネジメント』には、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（粒度分布、水分含量、流動特性など）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。

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。製剤・工程開発から製造・品質管理にいたる過程をリスクマネジメントの用語で説明すると、『研究開発において行われる基礎データ収集、製品設計、プロセス設計、評価法設計など開発はリスクアセスメン

トと捉えられ、開発段階できめられた製造プロセスに従い製造し、品質試験の結果により品質の恒常性を保証しようとする実生産はリスクコントロール段階ととらえることができる。」となる。

一方、Q8 ガイドラインの目的には“(申請書の)製剤開発の経緯の項において、製品及びその製造工程の開発に対して科学的手法と品質リスクマネジメントを適用することで得られた知識を提示する機会が提供されることとなる。製剤開発の経緯の項は、製造販売承認申請のためにまず作成されるが、製品のライフサイクルを通じて新たな知識が得られた場合は、これを更新することができる。又、審査官及び査察官が製品と製造工程を総合的に理解できるように設けたものである。本ガイドラインには、製剤学と製造科学の観点から理解が進んだことを証明できた場合、規制当局が柔軟な取組みを行うための基盤となる領域を示す。規制の柔軟性の程度は、提示した関連の科学的知識のレベルによって決まる。”とある。これにより、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申請書に記述すること(官民間のリスクコミュニケーション)を求めている。さらに、規制適用の程度がリスクの程度によることを述べている。

又、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。

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。

さて、2005年にQ8、Q9ガイドラインが仮合意されて以来、各ガイドラインに関する議論には以下のような印象がある。

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構築していくのかという技術論、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た印象がある。

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印象がある。

三つのガイドラインが作成者の意図に反し、理解が進まない理由としては1)それぞれのガイドラインには概念的記述が多く、具体的な指示がない。2)対象にしている業務が広範囲に渡っている。3)相互に関連する3つのガイドラインの作成が五月雨的であった。などが考えられる。

Q10のパブリックコメントを募集している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(本稿 ICHの経緯の項を参照)へ対する理解は得られないという認識が大勢をしめるようになった。この結果ICHではQ8、Q9、Q10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、日本が素案作成を担当した。合計40を超えるQ&Aが2008年11月に持ち寄せられ約30がたたき台として合意された。表1に仮合意されたQ&Aの例を示す。これらのQ&Aは多少の修正はあると思われるが、示されている基本方針はコンセンサスがとれているものと考える。

Q:「Quality by Designにはデザインスペース、リアルタイムリリース、管理戦略の設定は必要か?」

A:「製剤開発を広く深く行った場合でも必ずしもデザインスペースの設定、リアルタイムリリースは必ずしも必要としない。しかし、管理戦略の設定は必須である。」といったQ&Aにより、誤解を解くと同時に基本的要件を確認するように設定されている。2009年中には数十のQ&Aが発行される予定である。

Q8、Q9、Q10の実践に関して事例研究が世界的

表1 ICH IWGによるQ&A 事例

- ・ **Q01: Is it always necessary to have a Design Space, RTR testing and CS to implement QbD?**
- ・ Under Quality by Design, establishing a design space or using real time release testing is not necessarily expected [ICH Q8R, step 4]. However, a control strategy is always expected regardless of the development approach, minimal or enhanced. A control strategy needs to be based on product and process understanding together with risk assessment.
- ・ **Q06: Is there a regulatory expectation to develop a design space for an existing product?**
- ・ No, development of design space for existing products is not necessary unless the applicant desires to achieve a higher degree of manufacturing flexibility.
- ・ **Q07: Is it possible to develop a design space for existing products?**
- ・ Yes, it is possible. Manufacturing data and process knowledge can be used to support a design space for existing products. Relevant information should be utilised from e.g. commercial scale manufacturing, process improvement, CAPA and existing development data.
- ・ Typically, manufacturing operations run under narrow operational ranges in fixed equipment. Consequently, an expanded region of operation and an understanding of multi-parameter interactions may not be achievable from existing manufacturing data alone.
- ・ **Q11: What is the difference in a control strategy for products developed using the minimal approach vs. 'quality-by-design' approach?**
- ・ Control strategies are expected irrespective of the development approach. Control strategy includes different types of control proposed by the applicant to assure compliance with specifications, such as in-process testing and end product testing. For products developed following the minimal approach, the control strategy is derived empirically and typically relies more on discrete sampling and end product testing. Under QbD, the control strategy is derived using a systematic science and risk-based approach. Testing, monitoring or controlling is often shifted earlier into the process and conducted on- or at-line. Some traditional tests may not be necessary based on demonstrated process knowledge, process control and robustness.
- ・ **Q21: What is the difference between "real time release" and real time release testing?**
- ・ The definition of real time release testing in Q8R, step 4 is 'the ability to evaluate and ensure the acceptable quality of in-process and/or final product based on process data, which typically includes a valid combination of measured material attributes and process controls.'
- ・ "Real time release" encompasses real time release testing as described above plus the quality release decision, including GMP requirements
- ・ **Q22: How is batch release affected by employing real time release testing?**
- ・ Batch release is the final decision to release the product to the market regardless whether RTR testing or end product testing is employed. End product testing involves performance of specific analytical procedures on a defined sample size of the final product after completion of all processing for a given batch of that product. Batch release involves an independent review of batch conformance to predefined criteria through review of testing results and manufacturing records.
- ・ **Q24: Is a product specification still necessary in the case of RTR testing?**
- ・ Yes, product specifications [see ICH Q6a and Q6b] still need to be established and met, if tested.

に活発に行われている。ここで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⁴⁾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、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例にもあるように、リア

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今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。

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。理解

が難しいと言われるガイドラインではあるが、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

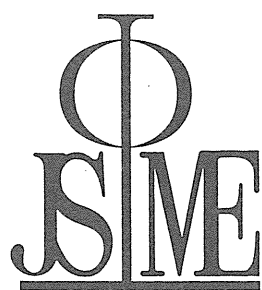
- 1) ICH のホームページは <http://www.ich.org/>, 日本における ICH のホームページは http://www.pmda.go.jp/ich/ich_index.html で英文ガイドラインとともに日本語訳が掲載されている。
- 2) 参考文献 1 の Q9 の項目参照。
- 3) 檜山行雄, ICH Q9 品質リスクマネジメント—議論経過の解説—, *PDA Journal of GMP and Validation in Japan*, 8, 39–46 (2006).
- 4) 平成 19 年度厚生労働科学研究, 「医薬品製造開発・承認審査の確実かつ効率的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。

Handbook of Pharmaceutical Machinery and Engineering
[Second Edition]

製剤機械技術ハンドブック [第2版]

設立20周年記念版

製剤機械技術研究会設立20周年記念出版編集委員会 編



製剤機械技術研究会