

201132029A

厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業

後発医薬品の同等性ガイドラインにおける試験条件の
最適化に関する研究

平成23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 四方田 千佳子

平成24(2012年)4月

目 次

I. 総括研究報告

後発医薬品の同等性ガイドラインにおける試験条件の最適化に関する研究

四方田千佳子 ----- 1

II. 分担研究報告書

1. 難溶性薬物の溶出試験における界面活性剤の可溶化能に関する研究

岸本清子 ----- 7

2. 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

梶村計志 ----- 15

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—

柴田寛子 ----- 23

添付資料 1 Reflection paper on the data requirements for intravenous
liposomal products developed with reference to an innovator
liposomal product

添付資料 2 先発リポソーム製剤を基準に開発された静脈注射用リポソーム製剤の提出データに関するリフレクションペーパー (案)

4. リポソーム製剤のガイドライン試験法に関する検討

斎藤博幸 ----- 49

5. 脂質分散系製剤の製剤評価法に関する研究 (2)

—リポソーム製剤の薬物放出性に関する検討—

柴田寛子 ----- 57

6. 生物学的同等性試験ガイドラインの改正

四方田千佳子 ----- 67

添付資料 1 English version of Guideline for Bioequivalence Studies of Generic
Products

添付資料 2 English version of Guideline for Bioequivalence Studies of Generic

Products Q&A(February 29, 2012)

- 添付資料 3 English version of Guideline for Bioequivalence Studies for Different Strengths of Oral Solid Dosage Forms
- 添付資料 4 English version of Guideline for Bioequivalence Studies for Formulation Changes of Oral Solid Dosage Forms
- 添付資料 5 English version of Guideline for Bioequivalence Studies for Different Strengths of Oral Solid Dosage Forms, Guideline for Bioequivalence Studies for Formulation Changes of Oral Solid Dosage Forms Q&A
- 添付資料 6 English version of Guideline for Bioequivalence Studies for Different Oral Solid Dosage Forms
- 添付資料 7 English version of Guideline for Bioequivalence Studies for Different Oral Solid Dosage Forms Q&A
- 添付資料 8 English version of Bioequivalence Studies of Generic Products for Ethical Combination Drug Products
- 添付資料 9 English version of Bioequivalence Studies for Different Strengths of Ethical Combination Drug Products and Formulation Changes of Ethical Combination Drug Products Q&A

7. 経皮吸収型製剤等の放出試験法の設定に関する研究
並びに坐剤の放出試験法に関する基礎検討

四方田千佳子 -----211

- 添付資料 1 皮膚適用製剤等の放出試験法（部分案）
- 添付資料 2 <725>Topical and Transdermal Drug Products – Product Performance Tests

厚生労働科学研究費補助金（医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）
後発医薬品の同等性ガイドラインにおける試験条件の最適化に関する研究

平成 23 年度 総括研究報告書

研究代表者 四方田千佳子 国立医薬品食品衛生研究所 薬品部第一室長

研究要旨

生物学的同等性試験はその臨床効果の同等性を保証しうる試験として大きな役割を果たしているが、現在のガイドラインの発出後すでに12年を経て、修正すべき点が指摘されるようになってきている。そこで、溶出試験部分を中心に産官学で問題点について議論を繰り返し、検討結果を基に平成24年2月に改訂版が発出された。そこで、本研究では、生物学的同統制試験ガイドラインの改定に伴って検討すべき課題を取り上げると共に、今後のガイドライン改定に必要なと思われる特殊な製剤の評価法など、新たな問題点の解決に努めることとした。

昨年度は、新たに使用が認められた界面活性剤の使用上の問題点の把握、マウント形成時に適用が認められた回転バスケット法の試験条件の評価、特殊な製剤として脂質分散系を取り上げマイクロエマルジョン製剤、リポソーム製剤などの検討を開始した。

本年度は、さらに溶出試験における界面活性剤使用の最適化にむけた検討、リポソーム製剤に関するEMAのリフレクションペーパーの検討、リポソーム製剤の放出試験に関するFDAの内包薬物の放出試験条件の検討、表面電位測定によるリポソーム表面固定水和層の厚さの評価、PEGリン脂質のリポソーム膜内外層間の分布や表面被覆率、リポソーム膜表面でのPEG鎖コンフォメーションなどに関する蛍光分光学的評価を行った。さらに、経皮吸収型製剤等に関する放出試験法のドラフトの改訂、坐剤の放出試験法に関する基礎的検討を試みた。さらに、改訂された生物学的同等性ガイドラインの変更点を明らかにすると共に、国際的流布を目指して、Q&Aを含むすべての文書に対する英文翻訳版の作成を行った。以上の研究結果は、それぞれの課題に対する有用な情報の蓄積を可能として、今後のガイドラインの改定に役立つものである。

キーワード： 生物学的同等性ガイドライン、リポソーム製剤、経皮吸収型製剤、坐剤

分担研究者

柴田寛子 国立医薬品食品衛生研究所 薬品部

齋藤博幸 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 教授

岸本清子 東京都健康安全研究センター
医薬品部医薬品研究科

梶村計志 大阪府立公衆衛生研究所衛生化学
薬事指導課

A. 研究目的

我が国の後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドラインは、昭和 55 年 5 月に「生物学的同等性に関する試験基準」が出されたことに始まる。その後、平成 9 年 12 月に「後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドラインについて」が出され、数回のマイナーチェンジを経て、現在のガイドラインとなっている。このガイドラインに続いて、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、剤形が異なる製剤の追加のための生物学的同等性試験ガイドラインが出されており、これらのガイドラインは後発医薬品に限らず、新薬においても、承認後の生物学的同等性確保のために重要な役割を果たしている。

我が国の生物学的同等性ガイドラインでは、溶出試験を生物学的非同等性を防ぐための有効な試験法としており、ガイドライン中での溶出試験の役割は、（1）生物学的同等性のサポートデータと（2）胃酸度等の個体差に対応した BE の保証である。前者に対しては、薬物動態パラメータのバラツキの大きな医薬品で、ヒト試験では同等性を証明することが難しい場合、90%信頼区間で生物学的非同等と判定されたものでも、溶出挙動が類似あるいは同等である場合には、多数の被験者を用いなくても、同等性パラメータの平均値の

比較で同等性が認められる救済措置が設けられている。

このように、溶出試験の役割が大きなガイドラインであるために、溶出試験の試験条件に関して詳細な記述がなされて、試験条件に対する縛りが強くなっている傾向があった。溶出試験実施にあたっての試験実施数の軽減、使用できる界面活性剤の制限の撤廃などの試験条件の緩和が望ましいという方向で、改定作業が進められ、平成 24 年 2 月に改訂版が発出された。

本研究では、これらの試験条件の緩和に関して、試験条件の変更が溶出試験結果に与える影響に関して引き続き検討した。

また、近年の種々の機能を付与した製剤の開発に伴う、評価方法の多様化に対応するため、リポソーム製剤に関する基礎的検討を進めた。

また、改訂ガイドラインに関しては、変更点をまとめると共に、海外への発信を目指して、各ガイドラインの英文版を作成した。

さらに、経皮吸収製剤等における放出試験法案の改定、坐剤の放出試験法に関する基礎的検討を行った。

B. 研究方法

(倫理面への配慮)

特になし。

B-1. 難溶性薬物の溶出試験における界面活性剤の可溶化能に関する研究 モデル製剤として、ブランルカスト水和物錠剤を用い、界面活性剤としてポリソルベート 80 (PS)、ドデシル硫酸ナトリウム (SDS) を用いて、溶出試験を試みた。

B-2. 溶出試験に使用されるラウリル硫酸ナトリウム (SDS) の品質に関する研究 SDS 試薬を溶解したときの pH の溶出挙動に対する影響について、溶出挙動に pH 依存性が認められるピロミド酸錠、メフェナム酸カプセル及びテプレノンカプセルについて検討した。

B-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 EMA が提示したリフレクションペーパー

(案) では後発品を開発する際に要求されるデータに関して、どのような考え方が提案されているのか調査し、設定目的・背景、各試験の要件などを概説した。

B-4. リポソーム製剤のガイドライン試験法に関する検討 ポリエチレングリコール (PEG) 修飾リポソームの血中動態や体内分布を制御する表面

物性指標の検討を目的として、PEG 修飾リポソームのゼータ電位測定によるリポソーム表面固定水和層の厚さの評価に加えて、PEG リン脂質のリポソーム膜内外層間の分布や表面被覆率、リポソーム膜表面での PEG 鎖コンフォメーションなどに関する蛍光分光学的評価を行うことで、これら測定パラメータのリポソーム表面物性指標としての有用性を検討した。

B-5. 脂質分散系製剤の製剤評価法に関する研究 (2) -リポソーム製剤の薬物放出性に関する検討 リポソーム製剤の品質を確保するために評価すべき重要な製剤特性の一つとして、*in vitro* 薬物放出性が挙げられている。FDA のドキシソルビシン(DXR)封入 PEG リポソームの生物学的同等性試験に関するドラフトガイダンス試験条件のうち、pH、温度、超音波の DXR 放出挙動に与える影響を評価すると共に、緩衝液の種類や希釈率などの影響も評価した。

B-6. 生物学的同等性試験ガイドラインの改正

ガイドラインの改正状況をまとめると共に、医薬品のグローバルな製造及び供給が行われている現状を鑑み、日本の生物学的同等性ガイドラインが海外においても周知されるよう、ガイドライン及び Q&A を英訳し、成果として公表することとした。

B-7. 経皮吸収型製剤等の放出試験法の設定に関する研究並びに坐剤の放出試験法に関する基礎的検討

経皮吸収型製剤等の放出試験法は、昨年度に作成した原案を基に、産官学のご意見に従って修正した。拡散セル法に関する USP の動向を調査した。

坐剤の放出試験法に関する基礎的検討では、回転セル法とフロースルーセル法により放出試験を試みた。また、示差走査熱量計 (DSC) による製剤の熱的性質と放出性を比較した。

C. 研究結果

C-1. 難溶性薬物の溶出試験における界面活性剤の可溶化能に関する研究 市販ポリソルベートの紫外可視吸収スペクトルの検討により、ポリソルベートによっては短波長部分に吸収が強いものもあるため、注意が必要であることが示された。

ブランルカスト水和物錠では、昨年度のソファルコン錠の場合と同様、PS と SDS の添加量と溶出挙動は比較的類似しており、両界面活性剤間で基本的には可溶化能に大きな差はないと思われた。また、pH6.8 の試験液中での、0.05~0.2% SDS 添加における溶出挙動では、SDS の臨界ミセル濃

度付近に相当して溶解状態が一定とならないため、溶出挙動がフィルターの有無で大きく変わるなど不安定であると考えられた。

C-2. 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 市販の20種類のSDS試薬を用い1.0w/v%水溶液を調製し、pHを測定したところ、pHは5.5～8.5程度の範囲にあり、大きな差が認められた。

溶出試験で使用される各種試験液（水、pH1.2, pH4.0, pH6.8, pH8.0）にSDS-A, B, Cを溶解し、pHの値に及ぼす影響について検討したところ、水以外の試験液では、5.0w/v%溶解した場合でも、pHは殆ど変化せず、各試験液のpHは一定に保たれていた。しかし、水に溶解した場合、SDS試薬によるpHの差は、溶解するSDS試薬の濃度が高くなる程広がった。5.0w/v%溶解した時のpHの値は、7.01（SDS-A）、5.08（SDS-B）及び9.45（SDS-C）であった。水を試験液として溶出挙動を比較した場合、使用するSDS試薬により溶出性に違いが認められた。ピロミド酸錠では、SDS-Cを使用した時の溶出率が若干、高かった。メフェナム酸カプセルの場合、使用するSDS試薬により、溶出挙動に明確な差違が認められた。テプレノンカプセルでは、SDS-Bを使用した時の溶出率が、全般に低かった。

C-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 リフレクションペーパーの構成は、大きく“緒言”、“議論”、および“結論”に分かれており、“議論”に要求データに関する考え方が記載されている。以下、目次に従って概説する。

緒言では、リポソーム製剤に関する概要と、その評価の考え方が述べられている。リポソーム製剤には特有の細胞との相互作用や分布特性を示すことから、通常の生物学的同等性（BE）試験では検出できない有効性・安全性の大幅な変化が起きる可能性があるため、新規のリポソーム製剤の安全性と有効性を確保するために徹底的な薬物動態や組織分布の特性解析が重要である。全体を通して生物学的同等性（Bioequivalence）ではなく、同等性・同質性（Comparability）という言葉が多用されている点であり、通常の生物学的同等性試験とは異なる位置づけであることが強調されている。

製剤品質の項では、特に、PEG化されたリポソーム製剤に対して、化学結合の詳細、PEG化脂質の分子量とサイズ分布、PEG化の安定性、リポソーム表面でのPEGの分布などの項

目が列挙されている。In vitro薬物放出性に関しては、“適切な試験液および苛酷条件下におけるin vitro薬物放出速度”、という項目があるが、それとは別に“In vitro放出試験の満たすべき要件”が記載されている。製剤コンパラビリティの立証には、開発製剤の質的・量的組成は、標準製剤と同一もしくは厳密に一致していること（identical or closely match）、と記載されている。

非臨床試験に関しては、薬物動態、組織分布、毒性および薬力学試験における同等性/同質性評価が求められるが、個別のリポソーム製剤の複雑さによっては非臨床試験を削減でき、どの試験を免除可能であるかはケースバイケースである、と記載されている。

C-4. リポソーム製剤のガイドライン試験法に関する検討 Post-insertion法によるPEG修飾リポソームの固定水和層の厚さ（FALT）の算出を試みたところ、PEG修飾によってFALTが1.4 nmから3.8 nmに増加していることが示された。また、リポソームのPEG修飾法に関わらず、FALTの増加は表面PEGリン脂質濃度に依存していることが明確に示された。PEGリン脂質添加量によるFALTとPEGリン脂質挿入効率の変化から、添加量として7 mol%程度でFALTが一定に達することが示された。DSPE-PEG2000-NBDで標識したリポソーム溶液に水溶性のNBD消光剤であるNa₂S₂O₄を添加し、蛍光強度の減少率からリポソーム膜外層側に存在するPEGリン脂質の割合を求めたところ、PEG修飾の有無に関わらず、約半分のリン脂質がリポソーム膜外層に存在することが示された。さらに、PEG修飾率の増加に伴う固定水和層長の増大が、リポソーム膜面からPEG鎖末端までの平均距離の増大、すなわちPEG鎖コンフォメーションの変化と相関していることが明らかとなった。

C-5. 脂質分散系製剤の製剤評価法に関する研究

(2) —リポソーム製剤の薬物放出性に関する検討— ヒト血漿50%溶液にDOXILを分散させ、37°Cで24時間インキュベートしたところ、顕著な薬物放出は観察されず、48時間インキュベートしてもDXR放出率は10～20%程度であった。

37°CにおけるpHの異なる緩衝液中（pH 5.5, 6.5, 7.5）のDXR放出挙動を観察したところ、どの試験液中でもDXR放出率は10%程度と低いことが判明した。各緩衝液について、温度上昇のDXR放出性に与える影響を評価したところ、緩衝液pH 5.5中では、McIlvaine緩衝液よりPBSで速いDXR放出が観察され、43, 47, 52, 57°Cと温度上

昇に伴い顕著に放出率が増加した。一方、pH 6.5 や7.5 では57℃以外では放出率が低く、温度上昇との相関性は認められなかった。

超音波の影響では、照射強度の上昇に伴い、DXR 放出率は大きくなったが、試験液のpHは、放出に影響せず、20分以内に放出率はほぼ100%に達した。

C-6. 生物学的同等性試験ガイドラインの改正

ガイドラインの改正に関わる、溶出試験条に関わる主な変更点は、以下の6点である。

- ① 溶出試験でパドル法、50回転でベッセルの底部に製剤の崩壊物が堆積する現象が認められる場合の対応
- ② 溶出試験で試験液が水の場合に水特有の問題がある場合の対応
- ③ 含量違い製剤、処方変更製剤での「その他」に分類される成分の0.5%以内の変更の変更水準の検討
- ④ フィルム層が溶出に対して影響しないことを示した場合のフィルム層の変更水準の検討
- ⑤ 口腔内崩壊錠が剤形追加される場合についての記載
- ⑥ 医療用配合剤に関する新規Q&Aの作成

以上の全てのガイドライン及びQ&Aについて、旧ガイドライン英文版を出発点として、英訳を試みた。

C-7. 経皮吸収型製剤等の放出試験法の設定に関する研究並びに坐剤の放出試験法に関する基礎

検討 市販ジクロフェナクナトリウム坐剤9製剤を用い、回転セル法による37℃における放出試験を試みたところ、2製剤では他の製剤に比べて放出が遅かった。温度の影響が疑われたため、試験液を36℃に設定したところ、放出曲線は製剤間で大きく異なった。さらに試験液温度を39℃としたところ、1製剤では放出が遅いままであったが、他の製剤間では差が消失した。フロースルーセル法では、回転セル法で溶出の遅い製剤の溶出が速くなり、製剤間の差は小さくなった。

DSC測定により、各製剤の吸熱ピークを比較したところ、製剤間でピークトップの温度、融解終了点などが異なった。坐剤からの放出性と、DSCによる吸熱ピークの位置には良好な相関が得られ、坐剤からの放出は製剤の溶融のコントロールが要因であることが示された。

D. 考察

D-1. 難溶性薬物の溶出試験における界面活性剤の可溶化能に関する研究 プランルカスト水和

物はその物理化学的性質から、pKaは3.42であるため、pH1.2~5程度では解離しにくくて、溶解度は低く、pH6.8では8倍程度に増加する。低pHでは、ほとんど荷電の無い状態のため、SDS添加でもPS添加でもあまり溶出率は上がらず、活性剤による差はほとんど認められない。pH6.8では、プランルカストは正荷電を有するため、SDSミセルとの相互作用が臨界ミセル濃度以上で急激に起こり、可能化能がPSよりもやや強くなったと思われる。活性剤濃度が低い部分では、ポリソルベートは臨界ミセル以上にあるためポリソルベートの方が溶出率が高い傾向がある。

D-2. 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

試験液のpHを試験前後で比較したところ、試験中におけるpHの変化が溶出性に影響を及ぼしていることが示唆された。ピロミド酸錠は、pH8.0以外は、速やかな溶出が認められていない。SDS-Cを適用した場合の開始時のpHが、8.16であったが、試験中にpHが変化し、終了時には試験液のpHが6.98になった。ピロミド酸の酸解離定数(pKa)は、5.74である。pH6.98の試験液中では、pH8.0と比較し、試験液に溶解しやすいと考えられる解離型の存在比が低くなることが予測され、この結果、SDS-Cを適用した場合でも40%程度の溶出率に留まった可能性がある。メフェナム酸カプセルは、pHが高い試験液程、速やかな溶出が認められるため、使用するSDS試薬により溶出挙動に明確な差が認められた。溶出性の相違は、試験液中における解離型の割合の差に起因すると考えられた。

テプレノンカプセルは、局外規第三部では、SDS試薬を5w/v%使用した溶出試験が設定されている。SDS-Aを適用した場合の試験前後におけるpHは何れも、速やかに溶出すると考えられる6.8付近であった。しかしSDS-Aを適用した場合でも溶出率は、6時間で60%程度であった。

D-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-

いくつか異なる点はあるものの、FDAが提示した“ドキシソルビシン塩酸塩に関するドラフトガイダンス”と共通して試験製剤に求められているのは、先発リポソーム製剤と同一（もしくは厳密に一致した）組成で構成され、物理化学的特性における類似性を示し、ヒトにおける封入薬物と遊離薬物の体内動態の類似性を証明するこ

と、である。上記要求事項は、先発リポソーム製剤と同等・同質であることを示すために、多くの研究開発者が科学的に必要であると判断する可能性が高いものと考えられる。今後、FDA や EMA のガイダンスを参考に、我が国で先発製剤を基準に開発されたリポソーム製剤に対してどのような方策が適切であるか、実験的検討も含めて、引き続き検討する必要がある。

D-4. リポソーム製剤のガイドライン試験法に関する検討

リポソームに組み込む PEG 脂質の分子量や添加量およびアンカーとして用いる脂質の物理化学的性質の違いによって、PEG 修飾リポソームの血中滞留性が変化することが知られている。PEG 修飾法として近年広く用いられている post-insertion 法において、PEG リン脂質添加量や調製温度による PEG 脂質挿入効率や FALT の変化を調べたところ、至適な添加量や調製温度が存在することが示された。さらに、PEG 修飾リポソームの PEG 鎖末端からリポソーム膜リン脂質頭部までの蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) を観測したところ、PEG リン脂質添加量の増大に伴うリポソーム表面固定水和層長の増大と膜面から PEG 鎖末端までの平均距離の増大との間により相関が認められた。これは、PEG 修飾リポソームの表面固定水和層長の増大が表面 PEG 鎖のコンフォメーション変化に起因することを明確に示唆する。また、FALT と FRET 距離はともに 5 ~ 7 mol% 程度の表面 PEG リン脂質濃度で一定に達しており、ここで PEG 鎖がマッシュルーム構造からブラシ構造に変化していると考えられる。このとき、リポソーム膜表面脂質 14~20 分子当たり 1 分子の PEG 脂質で覆われている計算になる。

D-5. 脂質分散系製剤の製剤評価法に関する研究 (2) —リポソーム製剤の薬物放出性に関する検討— pH は低いほど、温度は高いほど DXR 放出率が高く、速く放出される傾向が認められた。また pH、温度、超音波の中では DXR 放出挙動に与える影響は超音波が一番強く、超音波照射によって短時間で放出率が 100% に達することが分かった。

D-6. 生物学的同等性試験ガイドラインの改正

後発医薬品等の同等性試験ガイドライン検討委員会及びその関係者と溶出試験ワーキンググループに引き続き発足された医薬品品質フォーラム開発段階 BA/BE ワーキンググループの一部

メンバーによりガイドライン及び Q&A の英訳がなされた。

D-7. 経皮吸収型製剤等の放出試験法の設定に関する研究並びに坐剤の放出試験法に関する基礎検討 油性基剤からなるジクロフェナク坐剤の放出試験を、回転セル法と、フロースルーセル法で検討したところ、回転セル法では、試験液の温度により放出が大きな影響を受けること、放出性は DSC による吸熱ピークの温度と高い相関性が認められた。

E. 結論

E-1. 難溶性薬物の溶出試験における界面活性剤の可溶化能に関する研究 従来のガイドラインでは界面活性剤の濃度をポリソルベートとして 1.0% 以下で検討することとされ、今回の改訂ガイドラインでは、SDS 濃度はポリソルベートの最大濃度における溶解度を超えてはならないとしているため、今後更に異なる製剤で検討を加え、SDS 及び PS の医薬品添加剤との相互作用、原薬及び製剤に対する可溶化能との関連もあわせて検討する必要があると思われる。

E-2. 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 水を試験液とした場合、使用する SDS 試薬の pH の違いが溶出挙動に影響を及ぼす可能性があることが明らかとなった。

E-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- 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、個別にガイダンスを提示するか、現行の BE ガイドラインへの追記をするか、製品ごとのガイドラインが適切か、検討していく必要がある。今後、“ドキシソルピ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、詳細に検討することが契機となると思われる。

E-4. リポソーム製剤のガイドライン試験法に関する検討 蛍光標識 PEG リン脂質を用いた蛍光分光測定により、pre-mixed 法と post-insertion 法における PEG リン脂質挿入効率やリポソーム膜内外層での PEG リン脂質の分布を評価することが可能となった。両法で調製した PEG 修飾リポソームの FALT の変化をリポソーム膜表面に存在する PEG 脂質濃度当たりで比較したところ、リポソーム膜最外層における PEG リン脂質被覆率と固定水和層の厚みとの相関は pre-mixed 法と post-insertion 法でほぼ同じであり、修飾法の違いにかかわらず、PEG リポソームの表面物性が PEG

鎖の表面被覆率によって制御されていることが示された。Post-insertion 法は、添加した PEG 脂質の大部分がリポソーム膜外層に挿入され、薬物をリポソームに内封後に修飾が可能であるなど、pre-mixed 法よりも効率的な PEG 修飾法である。

E-5. 脂質分散系製剤の製剤評価法に関する研究 (2) —リポソーム製剤の薬物放出性に関する検討— 種々の試験条件下での、DXR 放出挙動が観察された。また、温度依存的な放出率の増加を見るために用いる試験液の pH は 5.5 の方が適していることが明らかとなった。今後は、各条件例の妥当性や適切性を評価するため、研究室で調製した PLD と DOXIL® を比較する必要がある。また、脂質二重膜の完全性や薬物封入状態を評価できる条件が実現できているかどうか検討する必要がある。

E-6. 生物学的同等性試験ガイドラインの改正

今回の英訳版は以下の 8 文書に対応する。後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドライン (1) 及び Q&A (2)、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と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 (3) 及び Q&A (4)、剤形が異なる製剤の追加のための生物学的同等性試験ガイドライン (5) 及び Q&A (6)、医療用配合剤の後発医薬品の生物学的同等性試験について Q&A (7)、含量が異なる医療用配合剤及び医療用配合剤の処方変更の生物学的同等性試験について Q&A (8)。

E-7 経皮吸収型製剤等の放出試験法の設定に関する研究並びに坐剤の放出試験法に関する基礎検討 皮膚に適用する製剤の放出試験法は拡散セル法を加えて完成させる予定とした。基剤の熱的性質を狭くコントロールすることで、放出の制御が可能であることが示唆された。また、36°C で製剤間で放出製が大きく異なることが、有効性に影響を及ぼさないかどうか検証する必要がある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 梶村計志、川口正美、四方田千佳子：難水溶性製剤の溶出試験に界面活性剤として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、42、626-632 (2011).
- 2) 川口正美、梶村計志、田口修三：トラネキサム酸カプセルにおける溶出挙動の経時変化に関

する研究、医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス、42、836-842 (2011).

- 3) 梶村計志、川口正美、四方田千佳子：難水溶性製剤の溶出試験に界面活性剤として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 2 報)、医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス、43、194-199 (2012).

- 4) 柴田寛子、四方田千佳子：米国 FDA のドキシソルビン封入 PEG リポソームに対する生物学的同等性試験ガイドライン (案) について、医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス、42 (11)、990-998 (2011)

2. 学会発表

- 1) 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-混在するアルキル硫酸ナトリウムについて-、第 48 回全国衛生化学技術協議会年会 (2011、長野).

- 2) 北山裕貴、四方田千佳子、斎藤博幸：PEG リン脂質によるリポソーム表面修飾法の最適化の検討。第 50 回日本薬学会中国四国支部学術大会 (2011.11.12-13 高松)

- 3) 柴田寛子、川西徹、四方田千佳子 ドキシソルビン封入リポソームの in vitro 薬物放出における pH、温度、超音波の影響
日本薬剤学会第 26 年会 (2011.5)

- 4) 柴田 寛子、斎藤 はる奈、川西 徹、四方田 千佳子：シクロスポリンマイクロエマルジョン製剤の製剤評価：粒子径及びラット体内動態の比較
ジェネリック医薬品学会第 5 回 (2011.6)

- 5) Hiroko Shibata, Chikako Yomota, Toru Kawanishi: Effect of pH, temperature, and ultrasound on drug-release from doxorubicin-encapsulated liposome AAPS (2011.10)

- 6) 柴田寛子、四方田千佳子、川西徹 逆相 HPLC-蒸発光散乱検出器を用いたリポソーム製剤中の脂質成分定量法の検討
日本薬学会第 132 年会 (2012.3)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

(研究要旨)難溶性薬物の製剤であるプラナルカスト水和物錠について、界面活性剤の種類と濃度が溶出性に及ぼす影響を検討した。

局外規第 3 部・プラナルカストカプセルの溶出率は、波長 260nm における吸光度によって測定しており、本法を準用して検討するにあたり、ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)及びポリソルベート 80 (PS)の溶液について、UV スペクトルを測定し、溶出試験結果への影響の有無を確認した。その結果、300nm 以下の短波長側に吸収を有し、測定値に影響を及ぼすと思われる複数の試薬の存在が明らかとなった。

市販のプラナルカスト水和物錠について、pH6.8 及び水の試験液に、界面活性剤として SDS 及び PS の濃度を变化させて添加し、溶出試験を実施した。その結果、SDS の臨界ミセル濃度付近で SDS と PS の溶出率が逆転する現象はあるものの、可溶化能に大きな差は見られなかった。また、臨界ミセル濃度付近では安定した溶出挙動が得られにくいため、溶出試験条件における濃度設定の際はその点を考慮する必要があることが明らかとなった。

A.研究目的

我が国の後発医薬品が、より安心して消費者に受け入れられるためには、先発医薬品に対して、有効性・安全性が同等であるという保証が重要である。そのためには、同一性調査の基に、品質規格という理化学的な同等性及び臨床的な効力の同等性(生物学的同等性)が担保されなくてはならない。

後発医薬品の申請時に添付すべき生物学的同等性の資料に関しては、「後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドラインについて」¹⁾(ガイドライン)が出されており、その中で溶出試験は生物学的非同等性を防ぐための有効な試験法と位置付けられている。

ガイドラインでは難溶性薬物には界面活性剤としてポリソルベート 80 (PS)のみの使用が認められていたが、2012 年 2 月の改正において、「PS80 が薬物や添加剤と相互作用し、薬物の溶出挙動に影響する場合など、緩衝剤をリン酸二水素カリウムの代わりにリン酸二水素ナトリウムを用いてラウリル硫酸

ナトリウムを使用してもよい。ただし、ラウリル硫酸ナトリウムを用いた場合の薬物の溶解度は、PS80 の濃度が規定されている最大濃度の場合の溶解度を超えてはならない。」とされた。また、それに続く Q&A(Q-58)には、「PS80 を第 1 選択とする」とされている。

SDS や PS は乳化剤や溶解補助剤として医薬品原料としても用いられ、多種類の規格の試薬が流通している。しかし、界面活性剤は高純度の製品が得られにくく、その品質が溶出性や分析結果に影響を与えることが懸念されている。

梶村らは、SDS に混在する他のアルキル硫酸ナトリウムが溶出性に影響を及ぼすことを報告している²⁾。また、PS については無色の製品が入手しにくいことから、吸光度を利用した分析において測定結果に影響を与える危険性もある。

本研究では、前年度検討した難溶性で溶出性に pH 依存性があるソファルコン錠³⁾に続いて、更に難溶性の高いプラナルカスト製剤について、溶出試験

における SDS 及び PS の添加効果について検討した。また今回、有効成分の定量に吸光度法(260nm)を使用することから、数種の SDS 及び PS を用いた試験液について、UV スペクトルを測定し、比較検討した。

B.研究方法

1.製剤

プラナルカスト水和物錠として、プラナルカスト錠 112.5「EK」を試験製剤として用いた。

2.界面活性剤

SDS は、市販の 3 種類の試薬を使用した。S1:ドデシル硫酸ナトリウム・生化学用(和光純薬工業), S2:ドデシル硫酸ナトリウム・イオンペアクロマトグラフ用(和光純薬工業), S3:ドデシル硫酸ナトリウム・ペレット,研究用(Serva Electrophoresis GmbH)

PS は、市販の 7 種類の試薬を使用した。P1 から P5 は和光純薬工業(株)製, P6 及び P7 は MP Biomedicals, Inc.製である。P1;PS, 植物由来・生化学用, P2; ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノオレエート・化学用, P3; ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノオレエート・分子生物学用, P4;ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノオレエート・無規格, P5;PS80「製造専用」・日本薬局方, P6;ツイーン 80, P7;ツイーン 80,細胞培養用。

3.試験液

UV スペクトル測定用:水は純水製造装置により製造した精製水を使用した。

溶出試験第 1 液,pH1.2(pH1.2), 0.05mol/L 酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液,pH4.0 (pH4.0), 溶出試験第 2 液,pH6.8(pH6.8), 薄めた McIlvaine 緩衝液・pH4.0 (Mc4.0) 及び薄めた McIlvaine 緩衝液・pH6.8 (Mc6.8)は関東化学株式会社製の試薬を用いた。

溶出試験用:水及び Mc6.8を用い, SDS は S3, PS は P2 を用いて調製した。

4.標準品

定量用プラナルカスト水和物は、高田製薬株式会社より提供された標準品を使用した。

5.UV スペクトル

各試験液について、また、水に規格の異なる SDS 又は PS を 0.5%相当添加した液について、210nm から 350nm の範囲で UV スペクトルを測定した。

6.溶出試験

ガイドラインに準じて、溶出試験を実施した。試験液の採取は、ガイドラインで定められた間隔で行い、4 時間までとした。また、溶出率は全て n=6 の平均値とした。

界面活性剤の添加濃度については、水の場合は 0~3.0%, Mc6.8 の場合は 0~1.0%とし、試験液の脱気条件は、45°C,2 時間加温とした。

7.装置

溶出試験装置:紫外可視分光光度計;株島津製作所製 UV-1600 付属(株)大日本精機製全自動溶出試験機 RT-3std

紫外可視分光光度計:株島津製作所製 UV-3100PC

C.研究結果

1. 試験液及び界面活性剤溶液の UV スペクトル

各試験液につき水を対照とし、波長 210nm から 350nm の範囲で吸収スペクトルを測定した。その結果、pH4.0, Mc4.0 及び Mc6.8 では低波長側で吸収が認められた(図 1)。

水に各種の SDS 又は PS を 0.5%相当添加した溶液について測定した吸収スペクトルを図 2 に示した。SDS 3 種に関してはいずれも吸光度測定による分析に障害があると思われる吸収は認められなかった。一方、PS 7 種に関しては、P4(局方品)及び P5(無規格)を除いて 300nm 付近から低波長側にかけて大きな吸収が認められた。

2. 水における界面活性剤濃度と溶出性の関係

プラナルカスト水和物錠について、水の試験液に SDS 又は PS を 0~3.0%添加して溶出試験を実施した。また、SDS 及び PS の全ての添加濃度における 90 分後の溶出率を界面活性剤濃度に対してプロットした図を示した。(図 3)

その結果、SDS, PS のいずれも 3.0%添加による 4

時間後の溶出率は低く、50%未満であり、SDSとPSの間でほとんど差が認められなかった。また、すべての濃度について90分後の溶出率を比較したところ、PSでは0~3.0%の範囲で徐々に溶出率が増加し、SDSの臨界ミセル濃度(0.1%付近)を超えると、SDSとPSの溶出率が逆転する傾向が観察された。

3. pH6.8における界面活性剤濃度と溶出性の関係

Mc6.8の試験液にSDS又はPSの濃度を0~1.0%まで変化させて添加し、溶出試験を実施した。また、SDS及びPSの90分後の溶出率を界面活性剤濃度に対してプロットした図を示した(図4)。

PSについては、添加濃度が低いところから濃度に応じて溶出率が高くなるが、1%添加の場合でも4時間後の溶出率は85%に満たなかった。SDSについては0.05%から0.20%の溶出挙動が通常と異なり、2段階或いは頭打ちの様子が観察された。90分後の溶出率の比較においてはSDSは0.1%で溶出率の急激な上昇が見られ、PSとの逆転が観察された。

0.05%から0.20%の溶出挙動について、同製剤を用いて0.45 μ mのフィルターによるろ過を行わず、インラインフィルターのみで試験を行ったところ、0.1%のSDS添加で見られた異常な溶出曲線は普通の溶出曲線となり、この領域では医薬品の可溶化が中途半端に起こるため、フィルターで除去される部分があるものと推測された(図5)。

D. 考 察

プラ nulカスト水和物錠には公的溶出規格は設定されていないが、プラ nulカストカプセルについては、医療用医薬品品質情報集(局外規第3部)⁴⁾に記載されている。規格は「試験液に0.5%PS80の溶出試験第2液溶液900mLを用い、パドル法100回転で試験を行うとき、溶出率は90分後に80%以上」であり、溶出率の測定は波長260nmにおける吸光度を測定するとされている。しかし、局方・PS80(PS)は無色~だいたい黄色の粘稠性のある液体であり、試薬によっては260nm付近の吸収が測定結果に影響を及ぼす可能性があることが明らかとなった。

品質再評価では、公的溶出試験(案)の作成に際しては、できるかぎり簡易な試験法を採用するとされ、定量法の第1選択枝として吸光度法が採用されている⁶⁾。局外規第3部においても界面活性剤としてPSを使用し、且つ溶出率に低波長側の吸光度を測定している製剤がみられる。試薬選択の際には注意が必要である。

プラ nulカスト水和物はその物理化学的性質から⁴⁾、pKaは3.42であるため、pH1.2~5程度では解離しにくく、溶解度は低く、pH6.8では8倍程度に増加する。低pHでは、ほとんど荷電の無い状態のため、SDS添加でもPS添加でもあまり溶出率は上がらず、活性剤による差はほとんど認められない。pH6.8では、プラ nulカストは正荷電を有するため、SDSミセルとの相互作用が臨界ミセル濃度以上で急激に起こり、可能化能がPSよりもやや強くなったと思われる。活性剤濃度が低い部分では、ポリソルベートは臨界ミセル以上にあるためポリソルベートの方が溶出率が高い傾向がある。

プラ nulカスト水和物錠では、前回のソファルコン錠の場合と同様、ポリソルベートとSDSの添加量と溶出挙動は比較的類似しており、両界面活性剤間で可溶化能に大きな差はないと思われた。

また、pH6.8の0.05~0.2%SDS溶液における溶出挙動については、SDSの臨界ミセル濃度付近であるため、可溶化能が不安定であると考えられ、フィルターの有無が大きな影響を及ぼし変動要因となると思われた。ガイドラインでは界面活性剤の濃度を1.0%以下で検討することとされているが、製剤の違いや室間差を考慮して溶出条件を設定する必要がある。

今後更に異なる製剤で検討を加えると共に、SDS及びポリソルベートの医薬品添加剤との相互作用、原薬及び製剤に対する可溶化能との関連もあわせて検討する必要があると思われる。

E. 結 論

各種のSDS又はポリソルベートの水溶液のUVス

ペクトルを測定した。その結果、ポリソルベートの多くは 300nm 以下に吸収が認められ、吸光度測定法を用いる場合は試薬の選定に注意する必要があることが明らかとなった。

ブランルカスト水和物錠について、pH6.8 及び水の試験液に、界面活性剤として SDS 又はポリソルベートの濃度を変えて添加し、溶出試験を実施した。その結果、本製剤に関しては、ポリソルベートと SDS ではいずれの試験液についても大きな差が見られず、活性剤濃度によってはポリソルベートの方が可溶化能は高かった。また、臨界ミセル濃度付近の濃度においては製剤や試験室間で溶出挙動が変化する可能性があることが明らかとなった。今後更に異なる特性の医薬品で情報を蓄積する必要がある。

F.参考文献

- 1) 厚生省医薬安全局審査管理課長通知:後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドラインについて, 医薬審第 487 号, 平成 9 年 12 月 22 日.
- 2) 梶村計志他, 難溶性製剤の溶出試験に界面活性剤として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, 42, 626-632(2011)

3) 岸本他, 医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業, 後発医薬品の同等性ガイドラインにおける試験条件の最適化に関する研究, 7-14(2011)

4) 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 20 年 3 月版, P256.

6) 厚生省医薬安全局審査管理課長通知:医療用医薬品の品質に係る再評価の実施手順等について, 医薬審第 595 号, 平成 10 年 7 月 15 日.

G.研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 岸本清子, 清水雅子, 蓑輪佳子, 坂本美穂, 門井秀郎, 中村絢, 濱野朋子, 中江大 ジソピラミドカプセルの溶出挙動に関する検討 全国衛生化学技術協議会関東甲信静支部理化学部会(2012.2)

H.知的財産権の出願・登録状況

なし

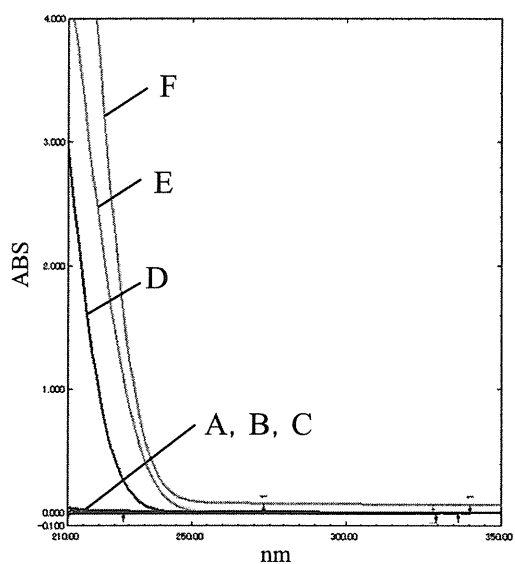


図1 溶出試験液のUV吸収スペクトル

A:水, B:pH1.2, C:pH6.8,
D:Mc6.8, E:Mc4.0, F:pH4.0

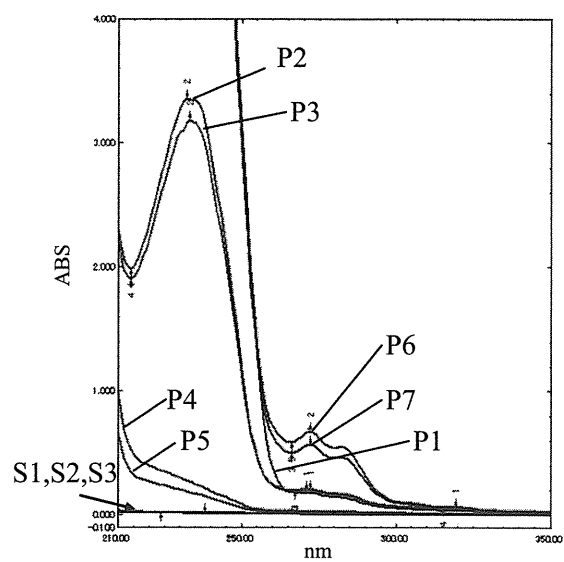


図2 界面活性剤水溶液の吸収スペクトル

SDS:S1,S2,S3
PS:P1;生化学用, P2;化学用
P3;分子生物学用, P4;無規格
P5;日本薬局方, P6;ツイーン80
P7;細胞培養用

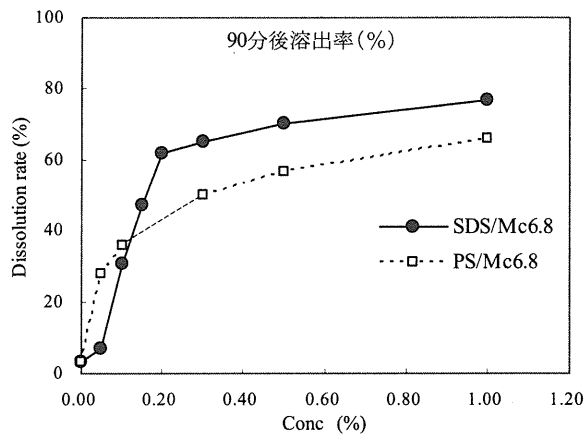
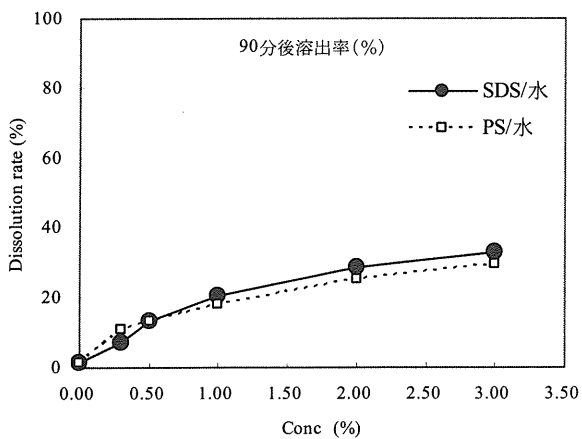
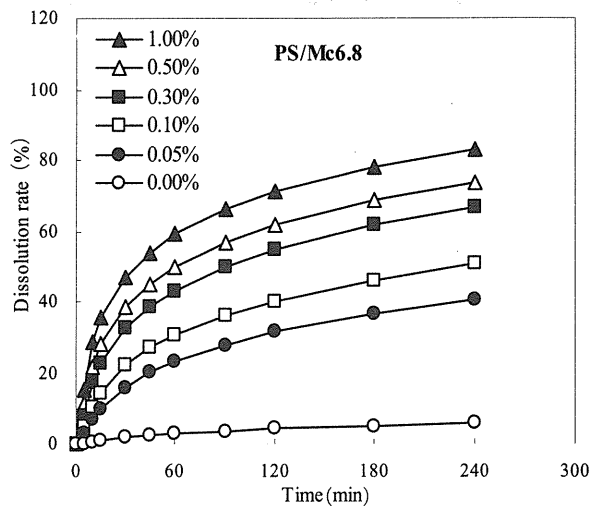
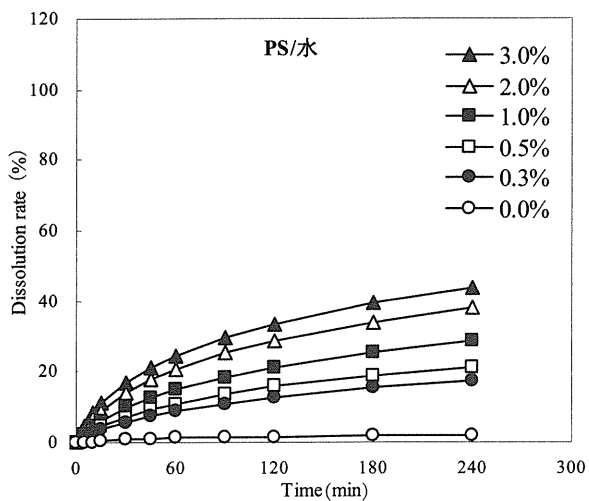
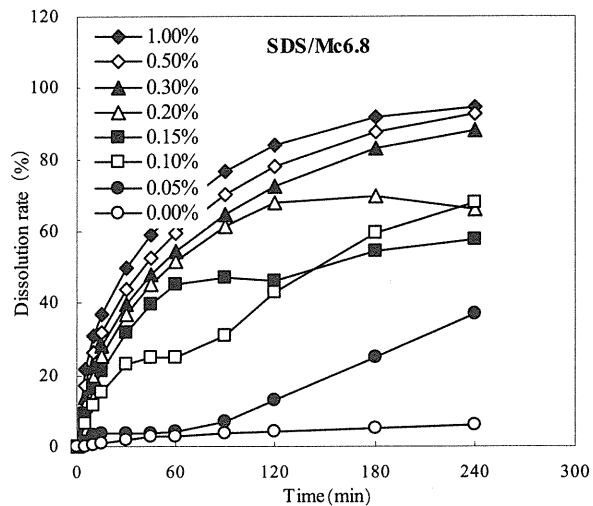
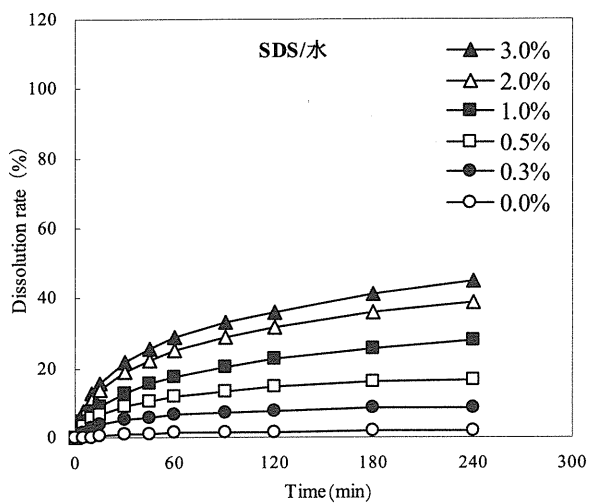


図3 水の試験液におけるプラニルカストの溶出性と界面活性剤濃度の関係

上: SDS 水溶液による溶出挙動
 中: PS 水溶液による溶出挙動
 下: 90 分後の溶出率の比較

図4 pH6.8 の試験液におけるプラニルカストの溶出性と界面活性剤濃度の関係

上: SDS/Mc6.8 溶液による溶出挙動
 中: PS/Mc6.8 溶液による溶出挙動
 下: 90 分後の溶出率の比較

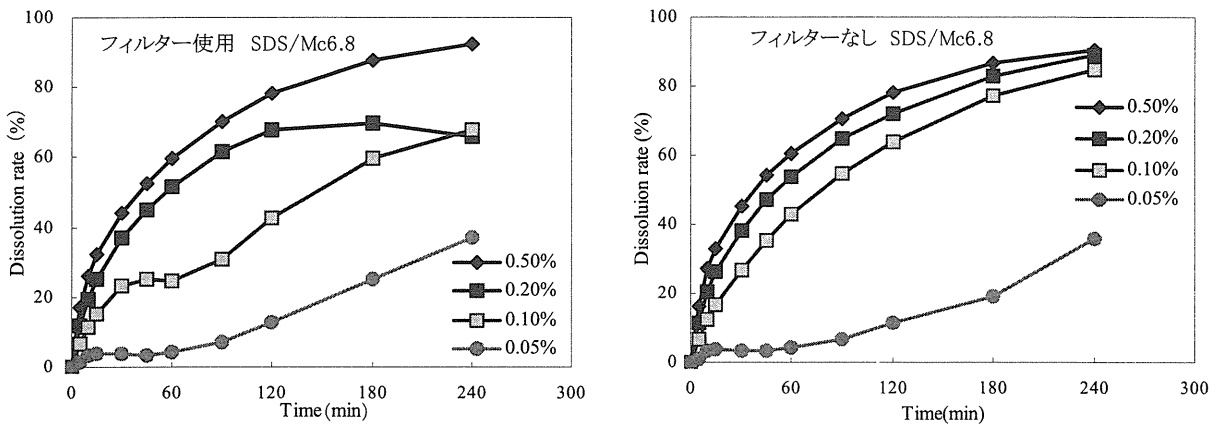


図5 フィルターろ過の有無による溶出挙動の違い
 - SDS/Mc6.8 溶液による溶出率 -

厚生労働科学研究費補助金（医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）
分担研究年度終了報告書

後発医薬品の同等性ガイドラインにおける試験条件の最適化に関する研究

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

－試験液調製時における pH の影響－

分担研究者 梶村計志 大阪府立公衆衛生研究所

（研究要旨）製剤の溶出性に影響を及ぼすラウリル硫酸ナトリウム（SDS）の品質について検討を行った。市販の SDS 試薬について水溶液を調製し、pH を測定したところ、大きな差が認められた。溶出試験に使用される各種試験液に SDS 試薬を溶解し、pH の値に及ぼす影響について検討した。水以外の試験液では、5.0w/v%を添加した場合でも、pH の値はほとんど変化せず、緩衝能は保たれていた。

溶出挙動に pH 依存性があるピロミド酸 250mg 錠，メフェナム酸 250mg カプセル及びテプレノン 50mg カプセルについて，水を試験液として，pH が異なる 3 種類の SDS 試薬を使用し溶出試験を実施したところ，使用する SDS 試薬により溶出性に差が認められた。

研究協力者

川口正美 大阪府立公衆衛生研究所

A. 研究目的

ラウリル硫酸ナトリウム（SDS）は、陰イオン性の界面活性剤であり、溶出試験では、難水溶性の製剤に対して適用される。分担研究者らは、溶出性に関与する SDS 試薬の品質について検討を行っており、混在する SDS (C₁₂) 以外のアルキル硫酸ナトリウムが溶出挙動に影響を及ぼすことを報告している¹⁾。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について溶出試験を行ったところ、使用する SDS 試薬により溶出挙動が異なっていた。高い溶出率をもたらす SDS 試薬には、テトラデシル硫酸ナトリウム (STS; C₁₄) が約 25%程度含まれており、混在する SDS (C₁₂) 以外のアルキル硫酸ナトリウムが溶出挙動に影響を及ぼすことが明らかとなった¹⁾。

本報告では、SDS 試薬を溶解したときの pH に

着目した。溶出挙動に pH 依存性が認められる

²⁾³⁾⁴⁾、ピロミド酸錠、メフェナム酸カプセル及びテプレノンカプセルについて溶出試験を行い、使用する SDS 試薬の pH が溶出性に及ぼす影響について検討した。

B. 研究方法

1. 製剤

ピロミド酸 250mg 錠（パナシッド錠）、メフェナム酸 250mg カプセル（ポンタールカプセル 250mg）及びテプレノン 50mg カプセル（セルベックスカプセル 50mg）を用いた。これらの製剤の有効成分の化学構造と pKa を図 1 に示した。

2. SDS 試薬

市販されている 20 種類 (9 社) の SDS 試薬を使用した。

3. 標準物質

ピロミド酸は、MP Biomedicals 社製の試薬を使用した。メフェナム酸は、シグマ社製のものを、テプレノンは、和光純薬工業株式会社製の

生化学用を使用した。

4. 試験液

以下の試験液を用いた。

pH1.2; 溶出試験第1液⁵⁾

pH4.0; 酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液, 0.05mol/L,
pH4.0⁵⁾

pH6.8; リン酸水素二ナトリウム・クエン酸緩衝
液, pH6.8³⁾

pH8.0; リン酸水素二ナトリウム・クエン酸緩衝
液, pH8.0²⁾

水; 精製水⁵⁾

5. 溶出試験

日本薬局方外医薬品規格第三部（局外規第三部）に従い^{2),3),4)}, 溶出試験を実施した。溶出挙動を検討する際の試験液採取は、品質再評価で定められた時間⁶⁾で行い、溶出率は全てn=6の平均値とした。

なお、各製剤の試験で使用される SDS 試薬の濃度及び規格試験の試験液は、以下の通りである。

ピロミド酸錠: 1.5w/v%, pH8.0,

メフェナム酸カプセル: 4.0w/v%, pH6.8,

テプレノンカプセル: 5.0w/v%, pH6.8

6. 溶出試験装置

株式会社大日本精機社製の全自動溶出試験機 (RT-3std) を使用した。

7. SDS 試薬の品質評価

第十六改正日本薬局方（日局）の各条「ラウリル硫酸ナトリウム」の規格に従い⁵⁾, 純度試験、水分含量及び総アルコール量の測定を行った。

8. pH の測定

日局の pH 測定法に従い pH を測定した⁵⁾。pH 計は、株式会社堀場製作所製 HORIBA F-52 を使用した。

C. 研究結果

1. SDS 試薬の pH

市販の SDS 試薬を用い 1.0w/v%水溶液を調製し、pH を測定した（図 2）。SDS 試薬の違いにより、pH に差が認められた。SDS-C の pH は最も高く、SDS-B は最も低い値を示した。各 SDS 試薬の pH の平均値は、6.54 であった。

以下の検討には、これら SDS 試薬の内、SDS-B、SDS-C 及びその中間的な pH を示す、SDS-A を用いた。各 SDS 試薬の pH はそれぞれ、SDS-A (6.98), SDS-B (5.61) 及び SDS-C (8.32) である。

2. SDS 試薬の品質評価

日局各条「ラウリル硫酸ナトリウム」の規格に従い、SDS-A, B, C の純度試験、水分含量及び総アルコール量の測定を行った（表 1）。各 SDS 試薬の試験結果は全て、日局の規格に適合していた。

SDS-B 及び SDS-C は、SDS-A と比較し、純度試験の未反応アルコール含量が高かった。しかし、純度試験の結果は全て、日局の規格上限値を大きく下回っていた。

3. 試験液の緩衝能に及ぼす SDS 試薬の影響

局外規第三部の溶出試験で使用される各種試験液（水, pH1.2, pH4.0, pH6.8, pH8.0）に SDS-A, B, C を溶解し、pH の値に及ぼす影響について検討した（図 3）。水以外の試験液では、5.0w/v%溶解した場合でも、pH は殆ど変化せず、各試験液の pH は一定に保たれていた。しかし、水に溶解した場合、SDS 試薬により pH に差が認められた。pH の差は、溶解する SDS 試薬の濃度が高くなる程広がった。5.0w/v%溶解した時の pH の値は、7.01 (SDS-A), 5.08 (SDS-B) 及び 9.45 (SDS-C) であった。

4. 水を試験液としたときの溶出挙動への影響

ピロミド酸 250mg 錠, メフェナム酸 250mg カプセル及びテプレノン 50mg カプセルについて, 水を試験液とし, SDS-A, B, C を使用する溶出試験を実施した。

これらの製剤は全て, 水以外を規格試験の試験液とする。水を試験液とする検討の前に, 局外規第三部に従い, 各製剤の規格試験を実施した。何れの SDS 試薬を用いた場合でも, 全ての製剤が溶出規格に適合しており, SDS 試薬による溶出率の差も特に認められなかった(表 2)。

しかし, 水を試験液として溶出挙動を比較した場合, 使用する SDS 試薬により溶出性に違いが認められた(図 4)。ピロミド酸錠では, SDS-C を使用した時の溶出率が若干, 高かった。メフェナム酸カプセルの場合, 使用する SDS 試薬により, 溶出挙動に明確な差違が認められた。テプレノンカプセルでは, SDS-B を使用した時の溶出率が, 全般に低かった。

5. 試験終了時における試験液の pH

水を試験液とする溶出試験が終了した後, 試験液の pH を測定し, 試験開始時と比較した(表 3)。

ピロミド酸錠では試験終了時に, 全ての試験液の pH が, より酸性側に変化した。特に SDS-C を溶解した試験液では, pH の変化が顕著であった。メフェナム酸カプセルの場合, SDS-B を溶解した試験液以外は, 終了時における pH がより酸性側に変化した。一方, テプレノンカプセルでは, SDS-C を溶解した試験液を除き, pH の変化がほとんど認められなかった。

D. 考察

SDS 試薬を水に溶解した時の pH の違いに着目し, 溶出性に及ぼす影響について検討した。溶出挙動に pH 依存性がある 3 種類の製剤について,

pH が異なる SDS 試薬を使用し溶出試験を実施したところ, SDS 試薬により溶出性が異なっていた。

分担研究者らは先に, SDS 試薬に混在するアルキル硫酸ナトリウムが溶出挙動に影響を及ぼすことを報告している¹⁾。SDS 試薬に STS(C₁₄) が約 25%程度混在していた場合, 高い溶出率をもたらすことが示された¹⁾。しかし, 本報告で用いられた SDS 試薬のアルキル鎖組成は全て, SDS(C₁₂)の割合が 99.8%以上であり(SDS-A; 99.8%, SDS-B; 99.9%, SDS-C; 99.8%), 確認された溶出挙動の差は異なる要因によるものである。

試験液の pH を試験前後で比較したところ, 試験中における pH の変化が溶出性に影響を及ぼしていることが示唆された。ピロミド酸 250mg 錠は, 局外規第三部に水, pH1.2, pH6.8, pH8.0 の溶出曲線が示されており²⁾, pH8.0 以外は, 速やかな溶出が認められていない。今回, SDS-C を適用した場合の開始時の pH が, 速やかに溶出すると考えられる 8.16 であった。しかし, 試験中に pH が変化し, 終了時には試験液の pH が 6.98 になった。ピロミド酸の酸解離定数(pKa)は, 5.74 である²⁾。pH6.98 の試験液中では, pH8.0 と比較し, 試験液に溶解しやすいと考えられる解離型の存在比が低くなることが予測され, この結果, SDS-C を適用した場合でも 40%程度の溶出率に留まった可能性がある。

メフェナム酸 250mg カプセルは, 局外規第三部に水, pH1.2, pH4.0, pH6.8 の溶出曲線が示されており³⁾, pH が高い試験液程, 速やかな溶出が認められている。今回の検討では, 使用する SDS 試薬により溶出挙動に明確な差が認められた。メフェナム酸の pKa は, 4.20 である³⁾。表 3 における結果から, 全ての試験液中におい

て、解離型の存在比が非解離型より高いことが推測された。確認された溶出性の相違は、試験液中における解離型の割合の差に起因すると考えられた。

テプレノン50mgカプセルは、局外規第三部に水、pH1.2、pH4.0、pH6.8の溶出曲線が示されており⁴⁾、pH1.2及びpH6.8の試験液で速やかな溶出が認められている。テプレノンは18個の炭素が直鎖状に連なったテルペノイド系の化合物である(図1)、局外規第三部では、最も難水溶性の製剤に適用される、SDS試薬を5w/v%使用した溶出試験が設定されている。SDS-Aを適用した場合の試験前後におけるpHは何れも、速やかに溶出すると考えられる6.8付近であった。しかしSDS-Aを適用した場合でも溶出率は、6時間で60%程度であった。局外規第三部ではSDS試薬を使用する場合、リン酸水素二ナトリウム・クエン酸緩衝液がpH6.8の試験液として用いられる。テプレノンカプセルの場合、速やかな溶出を得るためには、試験液のpHに加え、リン酸水素二ナトリウム、クエン酸等の存在が必要なのかも知れない。

局外規第三部で使用されるSDS試薬には、日局各条「ラウリル硫酸ナトリウム」の規格が適用される。そこで、最も高いpHを示すSDS-C、最も低いpHのSDS-B及びその中間的な値を示すSDS-Aについて、日局の規格試験を実施した。その結果、SDS試薬により若干の差が認められたものの、試験結果は全て、日局の規格に適合していた。

日局の「ラウリル硫酸ナトリウム」には、pHの規格は定められていない。純度試験で1w/v%水溶液の液性が中性付近の一定範囲内にあることが求められているが、今回試験に使用したSDS-A、B、Cは全て、規格に適合していた。現行の日局の規格試験だけでは、溶出性に影響を及

ぼすSDS試薬の品質を見極めることは難しい。新たな試験法に関する検討が必要である。

SDS試薬のpHには、混在する不純物が関与している可能性がある。本研究では、SDS-A、B、Cについて、日局の純度試験で規定されている⁷⁾塩化ナトリウム、硫酸ナトリウム及び未反応アルコール含量の測定を行った。しかし、溶解時のpHとの関係を示唆する結果は得られなかった。SDSは、ヤシ油の脂肪酸を原料とし、ラウリルアルコールを製した後、硫酸エステルとし、水酸化ナトリウムで中和し、生成される⁷⁾。最終過程で、遊離脂肪酸が不純物として混在していた場合、pHに影響を及ぼす可能性がある。

すなわち、水酸化ナトリウムによる中和が完全でない場合、pHが酸性になる。一方、中和が十分に行われた場合には、遊離脂肪酸と水酸化ナトリウムが弱酸/強塩基の塩を形成し、加水分解により、pHがアルカリ性になる可能性がある。こうしたことから今後、SDS試薬中の遊離脂肪酸含量を測定する必要があると考えられる。

今回対象とした製剤は何れも、水以外の試験液を規格試験で使用する。現在、製薬メーカーで行われてる溶出試験による品質管理で、規格試験以外は特に要求されていない。しかし、厚生労働省により平成19年度に策定されたアクションプログラム⁷⁾では、4液性による溶出挙動を製剤の実生産規模において定期的に確認することが求められている。本報告における結果から、水を試験液とした場合、使用するSDS試薬のpHの違いが溶出挙動に影響を及ぼす可能性があることが明らかとなった。

E. 参考文献

1) 梶村計志, 川口正美, 四方田千佳子; 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 42,