

and right sides of the brown line represent air and the inside of the tablet, respectively. The echoes showing several layers formed by compression are observed. Definite layers up to 1 mm depth and up to 0.5 mm depth appear in Tablets A and C, respectively. The indistinct echoes can be seen in Tablet D. On the other hand, indistinct but layer-like echoes are observed in Tablet B. Those observations suggest that unevenly penetrated compression force into the tablet. Further study is necessary to explain the details of these results. However, features of the pre-compression state, such as the particle size distribution of components in a mortar, would be affected by the penetration of compression force in the tablet compaction process. This physical property would be represented as echoes in depth terahertz images. Thus, a depth (B-scan) terahertz image would provide physical information about the effects of the manufacturing process on the tablet's state and also would sensitively detect changes in manufacturing quality.

Distribution of Coating Thickness

Figure 5 shows the distributions of coating thicknesses obtained from Tablets A and D. A histogram of the coating thickness of each tablet is shown at the right side of this figure. In the case of tablet A, the coating thickness was between 105 and 125 μm , a relatively narrow range of 20 μm . The coating thickness on the outer circuit of each tablet image shows a tendency toward relative thickness, and that on the center shows the opposite tendency. In the case of Tablet D, two peaks in the coating thickness range (40 to 70 and 120 to 150 μm) appear. Moreover, the thin and thick layers are irregularly distributed in the image. This observation definitely indicates that the coating property depends on the coating process. These results suggest that an inappropriate coating process was performed for tablet D.

Conclusions

A tablet containing relatively large amounts of API (from 75.1 to 82.3 %) would be detected qualitatively by comparison against the characteristic terahertz waveform of API. Terahertz imaging can reveal coating thicknesses and their distributions, the densities of components by compression, and hollows on a tablet surface based on the detection of the delayed reflection of terahertz pulses. Detection of the coating state and changes in the physical state, such as density distribution inside a tablet, would contribute not only to the identification of manufacturing quality but also to qualitative confirmation of commercial tablets including fake (counterfeit) and/or defective products. The TPS and imaging

techniques will be useful as nondestructive analytical tools for the quality control of commercial tablets.

Acknowledgments This study was supported in part by a research grant from the Ministry of Health, Labour, and Welfare of Japan (H20-iyaku-ippan-004). The authors would like to thank Mr. Tsuyoshi Miura, Mr. Daisuke Sasakura, and Mr. Tomoyuki Matsubara (Bruker Optics K.K., Japan) for their kind assistance.

Open Access This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License which permits any use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and the source are credited.

References

- Korter TM, et al. Terahertz spectroscopy of solid serine and cysteine. *Chem Phys Lett.* 2006;418:65–70.
- Day GM, et al. Understanding the influence of polymorphism on phonon spectra: lattice dynamics calculations and terahertz spectroscopy of carbamazepine. *J Phys Chem B.* 2006;110:447–56.
- Allis DG, et al. Solid-state modeling of the terahertz spectrum of the high explosive HMX. *J Phys Chem A.* 2006;110:1951–9.
- Saito S, et al. Terahertz vibrational modes of crystalline salicylic acid by numerical model using periodic density functional theory. *Jpn J Appl Phys Part 1-Regul Pap Brief Commun Rev Pap.* 2006;45:4170–5.
- Saito S, et al. Terahertz phonon modes of an intermolecular network of hydrogen bonds in an anhydrous beta-D-glucopyranose crystal. *Chem Phys Lett.* 2006;423:439–44.
- Allis DG, et al. Theoretical analysis of the terahertz spectrum of the high explosive PETN. *Chem Phys Chem.* 2006;7:2398–408.
- Taday PF, et al. Using terahertz pulse spectroscopy to study the crystalline structure of a drug: a case study of the polymorphs of ranitidine hydrochloride. *J Pharm Sci.* 2003;92:831–8.
- Walther M, et al. Noncovalent intermolecular forces in polycrystalline and amorphous saccharides in the far infrared. *Chem Phys.* 2003;288:261–8.
- Strachan CJ, et al. Using terahertz pulsed spectroscopy to study crystallinity of pharmaceutical materials. *Chem Phys Lett.* 2004;390:20–4.
- Zeitler JA, et al. Characterization of temperature induced phase transitions in the five polymorphic forms of sulfathiazole by terahertz pulsed spectroscopy and differential scanning calorimetry. *J Pharm Sci.* 2006;95:2486–98.
- Zeitler JA, et al. Temperature dependent terahertz pulsed spectroscopy of carbamazepine. *Thermochimica Acta.* 2005;436:70–6.
- Strachan CJ, et al. Using terahertz pulsed spectroscopy to quantify pharmaceutical polymorphism and crystallinity. *J Pharm Sci.* 2005;94:837–46.
- Zeitler JA, et al. Relaxation and crystallization of amorphous carbamazepine studied by terahertz pulsed spectroscopy. *J Pharm Sci.* 2007;96:2703–9.
- Kogermann K, et al. Investigating dehydration from compacts using terahertz pulsed, Raman, and near-infrared spectroscopy. *Appl Spectrosc.* 2007;61:1265–74.
- Zeitler JA, et al. Characterization of drug hydrate systems and dehydration processes using terahertz pulsed spectroscopy. *Int J of Pharmaceutics.* 2007;334:78–84.
- Liu H-B, et al. Characterization of anhydrous and hydrated pharmaceutical materials with THz time-domain spectroscopy. *J Pharm Sci.* 2007;96:927–34.

17. Ho L, et al. Analysis of sustained-release tablet film coats using terahertz pulsed imaging. *J Control Release*. 2007;119:253–61.
18. Ho L, et al. Applications of terahertz pulsed imaging to sustained-release tablet film coating quality assessment and dissolution performance. *J Control Release*. 2008;127:79–87.
19. Ho L, et al. Terahertz pulsed imaging as an analytical tool for sustained-release tablet film coating. *Eur J Pharm Biopharm*. 2009;71:117–23.
20. Fitzgerald AJ, et al. Nondestructive analysis of tablet coating thicknesses using terahertz pulsed imaging. *J Pharm Sci*. 2005;94:177–83.
21. Zeitler JA, et al. Analysis of coating structures and interfaces in solid oral dosage forms by three dimensional terahertz pulsed imaging. *J Pharm Sci*. 2007;96:330–40.
22. Sakamoto T, et al. Detection of tulobuterol crystal in transdermal patches using terahertz pulsed spectroscopy and imaging. *Pharmazie*. 2009;64:361–5.



Non-destructive analysis of tulobuterol crystal reservoir-type transdermal tapes using near infrared spectroscopy and imaging

Tomoaki Sakamoto^{a,*}, Yasuto Fujimaki^b, Yasunori Takada^c, Kazunosuke Aida^c, Takaaki Terahara^c, Toru Kawanishi^a, Yukio Hiyama^a

^a Division of Drugs, National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

^b Tokyo Metropolitan Industrial Technology Research Institute, 7-2-5, Katsuhika-ku, Tokyo 125-0062, Japan

^c TDDS Laboratory, Hisamitsu Pharmaceutical Co. Inc., 1-25-11, Kannondai, Tsukuba 305-0856, Japan

ARTICLE INFO

Article history:

Received 14 July 2012

Received in revised form 1 October 2012

Accepted 2 October 2012

Available online xxx

Keywords:

NIR spectroscopy

NIR imaging

Tulobuterol

Transdermal drug delivery system

Chemical imaging

Quality control

ABSTRACT

A non-destructive method for analyzing crystalline tulobuterol (TBR; a bronchodilator [β_2 -blocker]) in transdermal drug delivery system tapes with a crystal reservoir system was developed. A near infrared spectroscopy (NIRS) and a near infrared spectroscopic imaging (NIRI) were used to investigate the distribution of TBR crystals in transdermal tapes. The characteristic peak derived from a first overtone of secondary amine which appears based on crystal growth was used for the detection of crystals. NIR images were composed by the integrated values of that peak at each pixel. The time-course analysis by NIRS showed that the intensity of the peaks gradually increased, and the intensity reached a plateau between day 30 and day 42 after preparation of the model tapes. The authors observed the growth and distribution of TBR crystals in small areas in several types of matrices by NIRI time-course measurement. The authors also found that a macroscopic map can provide a rough distribution map of crystalline TBR in a whole matrix. In the case in which a tape distributed from the innovator was examined, the characteristic peak was also detected through a liner or a supporting board, by transmittance-reflectance NIR measurement.

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Tulobuterol (TBR) transdermal tapes are applied for bronchial asthma as a bronchodilator (β_2 -blocker) [1,2]. TBR is a suitable substance for use in systemic transdermal drug delivery because it has high permeability into the skin's keratin layer [1]. The TBR transdermal drug delivery system (TDDS) has advantages such as elimination of the side effects "abdominal pain and appetite loss [3]" and maintenance of effective blood TBR levels for approximately 24 h [4]. The release rate of TBR from a matrix is controlled by the formation of TBR crystals [5]. In this system (called a "crystal reservoir system"), crystalline TBR should be distributed homogeneously in a matrix. The ratio between crystalline TBR and dissolved TBR is dependent on the solubility of TBR in a matrix. Dissolved TBR molecules are released from the matrix into the skin, and crystalline TBR dissolves in the matrix gradually. This mechanism contributes to the control of the release rate of TBR from a matrix into the skin. Thus, the crystallization of an active pharmaceutical ingredient (API) such as TBR is one of the critical quality factors for this

dosage form. A content uniformity of TBR in a transdermal tape is commonly checked by a destructive analytical method such as a chromatography. However, to check a homogeneous distribution of crystalline TBR using non-destructive method is difficult. Therefore, development of non-destructive analytical method to evaluate distribution of crystalline TBR is expected.

It is therefore necessary to characterize not only the *in vitro* release rate of TBR from a matrix, but also its crystallinity in dosage form in the matrix. A release test, which is generally carried out to evaluate transdermal pharmaceuticals, shows only one of several alternative physicochemical parameters, such as a release rate in a medium. This test would not provide information about the crystallinity of TBR. The direct observation of crystals by microscopy is also difficult because an opaque liner and a supporting board made from cotton or plastic generally cover the matrix of transdermal tapes.

The term of storage for a crystallization process is generally decided by information about crystallinity based on the development stage. Therefore, a non-destructive detection procedure for the identification of a crystalline API would help to secure the quality of TDDS tapes that have a crystal reservoir system. Several studies have dealt with the qualitative and/or quantitative evaluation of the crystallinity of chemicals using a near infrared

* Corresponding author. Tel.: +81 3 3700 1141x230; fax: +81 3 3707 6950.
E-mail address: tsakamot@nihs.go.jp (T. Sakamoto).

spectroscopy (NIRS) chemometric calculation [6–13]. However, a unique analytical procedure using characteristic peaks based on crystal growth has not been reported, to the our knowledge.

Caira et al. [17] analyzed the chemical structure of two types of forms of TBR using X-ray diffraction. They described a crystal packing arrangement of two types of forms: Form 1 had a monoclinic prism containing four trimers of TBR in a unit cell, and Form 2 had a triclinic block containing two trimers in a unit cell. They concluded that the van der Waals attraction interactions (C–H... π) link trimers, and an intermolecular hydrogen bond (–OH...N) links three TBR molecules, composing a trimer.

These conclusions concerning the crystallographic structure of polymorphs based on the stereochemical observations suggest that a trimer is composed of two molecules that have the same absolute configuration (S-, R-, R-) at the chiral center and a molecule that has the opposite absolute configuration (R-, S-, S-).

The authors previously conducted quality analyses of TBR TDDS tape using microscopic laser Raman spectroscopic mapping (MLRSM) and terahertz pulsed imaging (TPI) [14,15]. In those studies, Raman chemical maps of crystalline TBR in matrices were obtained based on a characteristic peak, and the authors observed lumps of crystals in the terahertz images based on the change in a refractive index of terahertz pulse in the tape. In the present study, the authors observed the characteristic peak from 6500 cm^{-1} to 6350 cm^{-1} based on the crystal growth of TBR using NIRS. A simple data treatment which is not multivariate data processing but an integrated value (a peak area) of the absorption from 6500 cm^{-1} to 6350 cm^{-1} was applied. This absorption consists of overlapped three absorptions, but the origin of these absorptions is only an overtone of secondary amine. Moreover, required accuracy for estimation of crystallization ratio of TBR allows applying a simple data processing. The authors also examined the applicability of a non-destructive analysis for the quality control of TDDS tapes using NIRS and the feasibility of a time-course analysis of the distribution of TBR crystals in matrices by near infrared spectroscopic imaging (NIRI).

2. Experimental

2.1. Instruments and measurement conditions

NIRS measurements were performed using MPA Fourier-transform NIR spectrometer (Bruker Optik, Ettlingen, Germany). Microscopic NIRI measurements were performed using Vertex70 Fourier-transform infrared (IR) spectrometer (Bruker Optik) equipped with Hyperion 2000 IR Microscope (Bruker Optik). The resolution, scan numbers and measurement range were set at 2 cm^{-1} , 64, and $8000\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ for NIR, and 16 cm^{-1} , 32, and $8000\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ for NIRI, respectively. For NIR macroscopic mapping, MPA Fourier-transform NIR spectrometer was used, and NIR light was focused on the stage. The tapes were moved by 3 mm for each measurement. A total of 81 spectra were used to compose the macroscopic map. To reduce the total measurement time, the resolution and scan numbers were set at 16 cm^{-1} and 8, respectively. The measurement areas were $3\text{ mm} \times 3\text{ mm}$ for the NIRI and $27\text{ mm} \times 27\text{ mm}$ for the NIR macroscopic mapping. For the NIRI measurements, the liner was removed from the matrix. For the transmittance-reflectance measurements, a metallic board was put on the sample tapes.

2.2. Materials

Tulobuterol (TBR, purity >99.0%, Fig. 1) was provided by Hisamitsu Pharmaceutical Co. (Tokyo, Japan). 2-Ethylhexyl acrylate vinylpyrrolidone copolymer, isopropyl myristate, polyisobutylene,

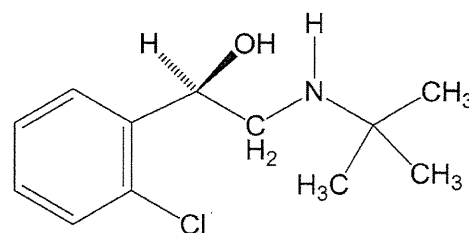


Fig. 1. Chemical structure of tulobuterol (TBR).

polybutene, and lipocyclic petroleum resin for matrices of the model tapes were used as Japanese Pharmaceutical Excipients (JPE)-quality products. Hokunalin[®] Tape (1 mg and 2 mg) (Maruho Co., Osaka, Japan) and other TBR tape products were purchased from a commercial source. Carbon tetrachloride as a reagent grade was purchased from commercial source.

2.3. Preparation of model tapes

The model tapes were prepared by the TDDS Laboratory (Hisamitsu Pharmaceutical Co.). To identify lumps of TBR crystals in the matrix, the authors prepared two types of matrix for model tape: a rubber matrix and an acrylic matrix. These two kinds of matrix are commonly used for a transdermal tape. In order to analyze a commercial tape which is made from an acrylic or a rubber matrix, model tapes made from these matrices should be prepared. TBR and other ingredients were added in a mortar and thoroughly stirred. The mixture was spread on a liner, and residual solvents were removed by drying. The matrix was adjusted to a constant thickness (approximately $50\text{ }\mu\text{m}$) and pasted onto a supporting board. A polyethylene terephthalate (PET) film was selected for both the liner and the supporting board of the model tapes. Each sample was cut to a size of 36-mm dia. TBR crystals in the model tapes were generated by leaving the samples to stand for one week (for the rubber matrix) or one month (for the acrylic matrix).

Model tapes containing 0% (w/w) (R-0, placebo) or 10% (w/w) (R-10) of TBR in the rubber matrix (consisting of polyisobutylene, polybutene, and lipocyclic petroleum resin) were prepared. The authors observed small white crystals in all areas of the matrix of the R-10 sample. Model tapes containing 0% (w/w) (A-0, placebo), 20% (w/w) (A-20) or 30% (w/w) (A-30) of TBR in the acrylic matrix (composed of an acrylic adhesive polymer and isopropyl myristate) were prepared. Due to the solubility of TBR, higher TBR concentrations were necessary to generate crystals in the acrylic matrix than in the rubber matrix.

2.4. Data treatment

The spectral data was treated using the software OPUS 6.5 (Bruker Optik). Standard normal variate (SNV) normalization and second derivative of spectra were carried out as a data pre-processing. NIR chemical images and maps are constructed using integrated values of absorption from 6500 cm^{-1} to 6350 cm^{-1} . Integrated values were calculated using the attached software OPUS 6.5.

2.5. Preparation of TBR carbon tetrachloride solution and NIR measurement

The authors prepared 0.5% (w/v) and 10% (w/v) TBR carbon tetrachloride solutions. A suitable volume of each solution was put in a cuvette and measured by a transmittance NIR spectrometer using carbon tetrachloride as a reference. The measurement range,

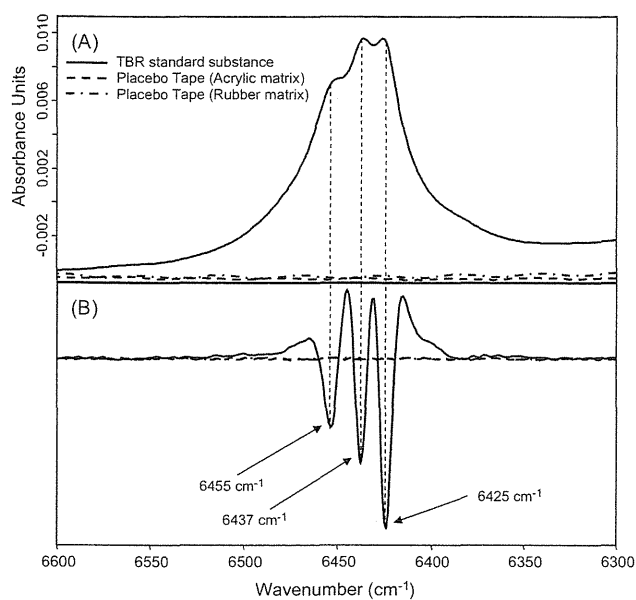


Fig. 2. NIR spectra of TBR reference standard and placebo tapes (TBR 0%). (A) Baseline correlated NIR spectrum and (B) second derivative NIR spectrum.

resolution, and scan number were set at $8000\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$, 2 cm^{-1} , and 64, respectively.

2.6. Preparation of amorphous form of TBR

To make an amorphous TBR, a portion of crystalline TBR (m.p.: $90.4\text{ }^{\circ}\text{C}$) on a glass dish was put into a dryer (the temperature was set at $100\text{ }^{\circ}\text{C}$). After crystalline TBR was melted, heating was stopped. And the glass dish was left for a while under an ambient temperature. A melting point of melted TBR was checked by a differential scanning calorimetry (DSC) ($82.6\text{ }^{\circ}\text{C}$).

3. Results and discussion

3.1. Characteristic absorption based on the crystallization of TBR

Fig. 2 shows the base-line correlated NIR spectrum and the second derivative NIR spectrum of pure TBR and the placebo model tapes (rubber matrix R-0 and acrylic matrix A-0). The characteristic peak of TBR was observed from 6500 cm^{-1} to 6350 cm^{-1} , and there was no interfering peak around it. The second derivative absorption of the peak was divided into three sharp peaks at 6454 cm^{-1} , 6437 cm^{-1} and 6423 cm^{-1} . The second derivative peak which had the strongest intensity, was observed at 6423 cm^{-1} .

The offset spectra and the second derivative spectra obtained from the A-30, A-20, and R-10 model tapes are shown in Fig. 3. The TBR characteristic peak from 6500 cm^{-1} to 6370 cm^{-1} was detected in the A-30 model tape, which had white crystals in the matrix. The three sharp peaks at 6455 cm^{-1} , 6437 cm^{-1} and 6425 cm^{-1} were also observed on the second derivative spectrum. These peaks correspond to pure TBR. Although the absorption from 6500 cm^{-1} to 6350 cm^{-1} was also observed on the spectrum obtained from the R-10 model tape (which contained white crystals), the peak shape of R-10 was a bit different from that of A-30. There are three peaks on the second derivative spectrum of first overtones of N–H, and their peak positions were observed at 6448 cm^{-1} , 6439 cm^{-1} and 6415 cm^{-1} . The peak positions (apart from the center peak) were shifted to 7 cm^{-1} or 10 cm^{-1} lower peak positions.

The unique absorption was not detected on the spectrum obtained from the A-20 model tape (which did not contain white

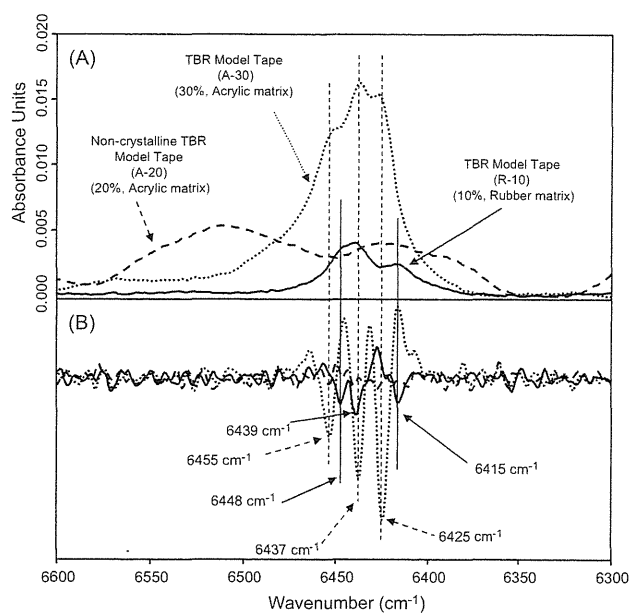


Fig. 3. NIR spectra obtained from the A-30, A-20, and R-10 model tapes. (A) Baseline correlated spectra and (B) second derivative spectra.

crystals in the matrix). TBR molecules in the A-20 matrix may remain in an amorphous form and/or at a very early stage of their crystallization process. The authors suspect that the broad waveform observed on the spectrum obtained from A-20 (Fig. 3) is a fringe. These results suggest that the peak from 6500 cm^{-1} to 6350 cm^{-1} is uniquely produced by the crystallization of TBR. The NIR absorptions of TBR that are assigned from a group vibration and a chemical structure are shown in Table 1.

3.2. Vibrational spectroscopic understanding of the characteristic absorption of TBR crystals

Fig. 4 shows the vector normalized and second derivative spectra obtained from the TBR carbon tetrachloride (CCl_4) solutions at 0.5% (w/v) and 10.0% (w/v). In the spectrum obtained from the 0.5%

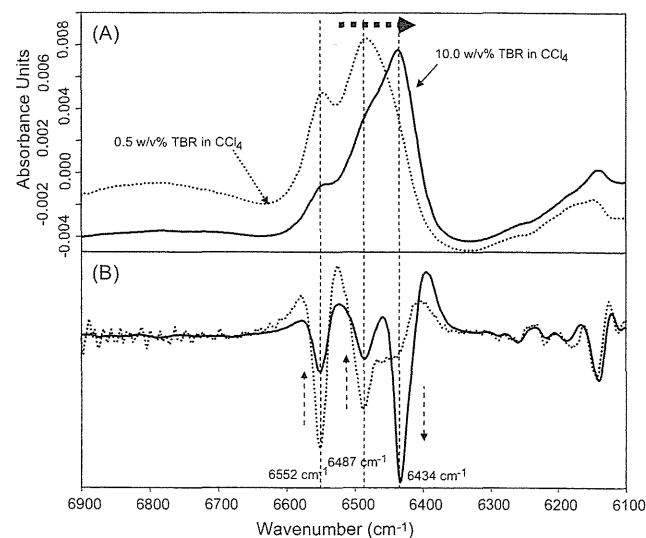


Fig. 4. NIR spectra obtained from the two TBR carbon tetrachloride (CCl_4) solutions. (A) Base line correlated spectra and (B) second derivative spectra.

Table 1
Wavenumbers of TBR (tulobuterol).

9000	8000	7000	6000	5000	4000 (cm ⁻¹)
← 3 rd Overtone region		← 2 nd Overtone region		← Combination	
← CH ₂		← C-H Comb.		← 1 st Overtone region	
← C-H		← C-H, Ar-C-H		← O-H Comb.	
8800 cm ⁻¹ : CH (aromatic), 2 nd overtone		8418 cm ⁻¹ : CH ₂ sym. stret., 2 nd overtone		7176 cm ⁻¹ : CH ₂ comb., 2xCH str. + CH bend	
		7092 cm ⁻¹ : OH (free), 1 st overtone		6437 cm ⁻¹ : NH (sec), first overtone	
		6425 cm ⁻¹ : NH (sec), first overtone		5990 cm ⁻¹ : CH ₂ , 1 st overtone (anti-sym. stret.)	
		5922 cm ⁻¹ : CH (aromatic), 1 st overtone		5757 cm ⁻¹ : CH ₂ , 1 st overtone (anti-sym. stret.)	
		5663 cm ⁻¹ : CH, 1 st overtone		5650 cm ⁻¹ : CH, 1 st overtone	
				4395 cm ⁻¹ : CH ₂ comb., CH stret. + CH bend	
				4330 cm ⁻¹ : CH ₂ comb., CH stret. + CH bend	

(w/v) solution, the two characteristic absorptions at 6552 cm⁻¹ and 6487 cm⁻¹ and the shoulder-like weak absorption at 6434 cm⁻¹ were observed. In the spectra of 10.0% (w/v), the intensities of the absorptions at 6551 cm⁻¹ and 6487 cm⁻¹ were reduced, depending on the TBR concentration. Conversely, the intensity of the absorption at 6432 cm⁻¹ increased depending on the TBR concentration. It was reported that a first overtone of secondary amine obtained from a dilute CCl₄ solution of butyl amine was observed at 6530 cm⁻¹ [16]. A stretching of a secondary amine of each molecule of butyl amine would not be affected by an inter-molecular force from near molecules in a dilute solution. In addition, several examples of first overtone of N-H for a secondary amine (R-NH-R) in CCl₄ were reported from 6471 cm⁻¹ to 6844 cm⁻¹ [16]. The absorption at 6552 cm⁻¹ observed in the present study is included in the reported wavenumber range based on the functional group. The positions of the three second derivative peaks obtained from crystalline TBR were observed at 10 cm⁻¹ or 100 cm⁻¹ lower peak positions compared to the corresponding peak positions obtained from the TBR CCl₄ solution.

Fig. 5 shows the time-course of peak intensities during the re-crystallization process after the melting of the TBR crystals. The spectra which were obtained from the samples in the early stage (less than 1 h), middle stage (from 1 h to 3 h), later stage (from 3 h to 24 h) and final stage (after 24 h) of the re-crystallization process are shown in the figure. The spectra obtained from the sample which contained no lumps of crystals that could be confirmed visually (0–40 min after melting and cooling) represent the wide and round-top peaks.

In addition, the peak widths and the peak intensities were getting narrow and strong with the passage of time, and the shape of the top of the absorptions became similar to that of the TBR standard substance. Although the three sharp peaks in the second derivative spectrum were not observed on the spectrum obtained from the sample within 1 h after melting, these peaks appeared at 3 h and the intensities became strong with the passage of time.

During the measurement, white crystals from the colorless lumps of amorphous TBR were observed in the vial. The authors suspect that the intensity of a first overtone of N–H stretching was getting stronger with the passage of time because an orientation of TBR molecules was arranged by means of re-construction of the

crystalline structure. The N–H functional group in TBR will form an inter-molecular hydrogen bonding network between neighbor TBR molecules. A first overtone of N–H stretching derived from hydrogen bonding-formed secondary amine in TBR crystals was shifted to lower wavenumbers compared to free N–H stretching.

Moreover, the intensity of the second derivative peak at 6508 cm⁻¹ was stronger and reached its maximum in the later stage, and then the intensity became smaller in the final stage of measurement. (The spectrum is represented in the enlarged window in Fig. 5B.) The spectra which were obtained from amorphous TBR are not shown here, in order to represent the other spectra clearly (the characteristic absorbance was not observed in the spectrum obtained from amorphous TBR). The intensity of the second

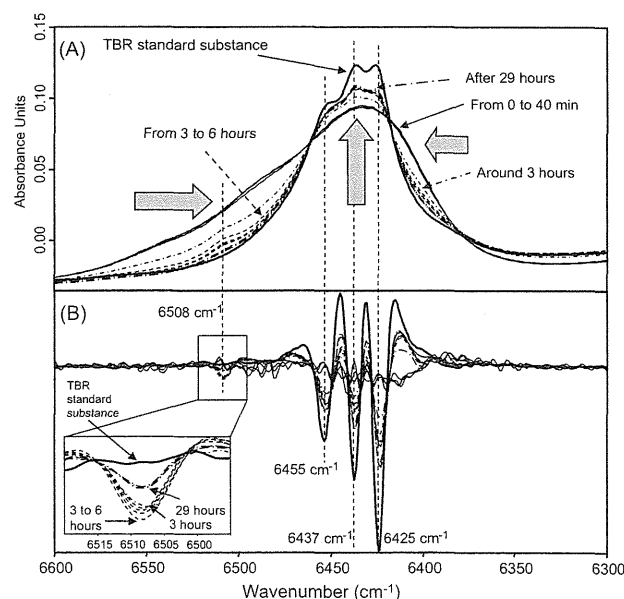


Fig. 5. Time-dependent change of peak intensity and shape during the re-crystallization process of TBR. (A) Base line correlated spectra and (B) second derivative spectra.

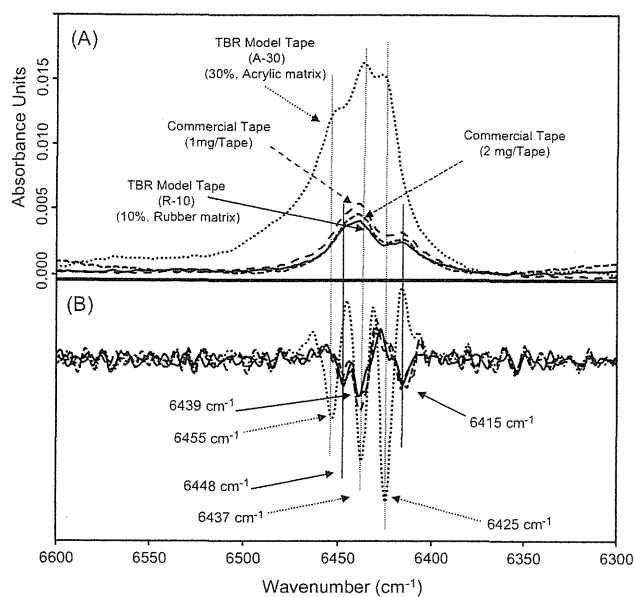


Fig. 6. NIR spectra obtained from the commercial tapes (1 mg/tape and 2 mg/tape) and the model tapes (A-30 and R-10). (A) Base line correlated spectra and (B) second derivative spectra.

derivative peak observed after 3 h at 6508 cm^{-1} increased at 6 h, but its intensity after 29 h was decreased. The intensity of that peak obtained from pure TBR disappeared.

The melting point of the small lumps of crystals in the early stage of re-crystallization was $82.6\text{ }^{\circ}\text{C}$ (measured by differential scanning calorimetry). The measured melting point was the same as the melting point of a polymorph of TBR (a less stable Form 2) [17]. The melting point of the crystals in the final stage of re-crystallization was $90.4\text{ }^{\circ}\text{C}$, and that temperature is the same as the melting point of the pure TBR used as the standard substance for this study (a stable Form 1). This conclusion would support our experimental results and also suggest that the crystalline form of TBR would be transformed from amorphous to Form 1 via Form 2. The authors believe that the absorption at 6508 cm^{-1} would be characteristically detected in Form 2, and then it would disappear when the crystals transform to Form 1.

3.3. Detection of TBR crystals in the commercial tapes

The NIR spectra obtained from the commercial tapes are shown in Fig. 6. The N–H overlapped absorption from 6500 cm^{-1} to 6350 cm^{-1} was observed. The narrow broken line and the wide broken line represent the spectra obtained from the 2 mg-tape and 1 mg-tape, respectively. The peak intensities from both tapes are almost the same, because several different TBR contents of the tapes were made by cutting several different sizes from one large sheet (i.e., from one batch). The dotted line and the solid line represent the spectra obtained from the model tapes A-30 and R-10, respectively. The three peak positions of the second derivative spectra of the two types of commercial tape correspond to R-10 but not with A-30.

A comparison of the growth process of TBR crystals in two types of matrix measured by MLRSM was reported [12]. Although further study would be necessary to determine the details of the differences in the peak position between two types of matrix, an interaction such as hydrogen-bonding networks between the TBR crystal and each matrix would differ, and this difference may affect the peak position derived from the N–H first overtone.

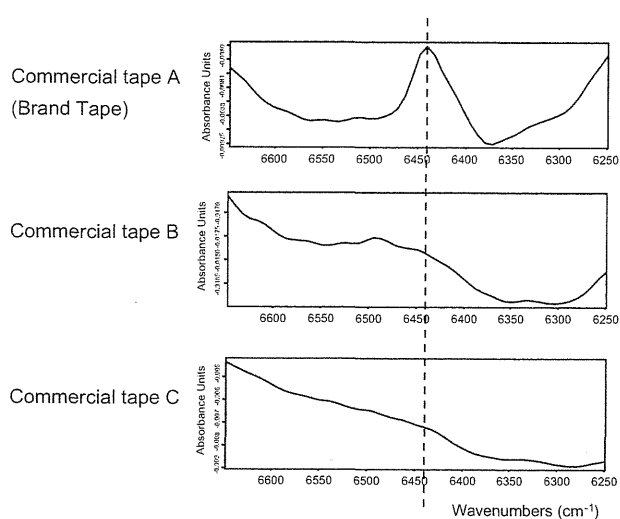


Fig. 7. NIR spectra obtained from the three kinds of commercial tapes (brand and other two commercial products).

In the present study, the detection of TBR crystals without removal of a liner that protects the adhesive side of the tape was possible by conducting transmittance-reflectance NIR measurements. Other commercial tapes which are used for the same clinical purpose but distributed by different manufacturers were also measured. Fig. 7 shows the NIR spectra obtained from these commercial tapes. The top of the three spectra represents the spectrum obtained from the brand product. The NIR spectra obtained from the other commercial tapes (which were from two different manufacturers) are also shown in the figure and no characteristic absorbance from 6500 cm^{-1} to 6350 cm^{-1} was observed. These results suggest that only the brand tape contains crystalline TBR in a matrix.

3.4. Time-dependent changes in the distribution of crystalline TBR in the model tapes

The absorbance intensities at 6340 cm^{-1} on days 3, 10, 17, 30, 42, 49 and 63 after the preparation were examined. Fig. 8(A) shows each NIR spectrum. The intensities on day 3 were almost the same as a fringe level, but they were significantly increased after day 10. After day 42, the intensities of absorbance reached a plateau. These results suggest that the crystallization term of TBR of this model tape is from 30 days to 40 days after the preparation. The correlation between absorption intensities and the elapsed days is shown in Fig. 8(B). The model tapes No. 1 to No. 3 were cut from one large sheet of the model tape. The relative intensities represent the ratio of the average intensity of three measurements of each model tape to that of a reference model tape which had been stored for about 6 months. Model tape No. 1 demonstrated strong intensities throughout the measurement term compared to the other tapes. The spot of NIR light is approximately 15 mm in dia., and the model tapes are each 36 mm in dia. Therefore, the authors used the average intensity obtained from three different measurement areas to cover the entire areas of the model tapes for calculation. This means that the crystallinity of TBR in each tape (each piece) would differ, and suggests that heterogeneity of distribution of TBR crystals would occur in the large sheet of model tape. The results suggest that NIRS is applicable for non-destructive quantitative predictions for an end-point of a crystallization process, and/or at a development stage.

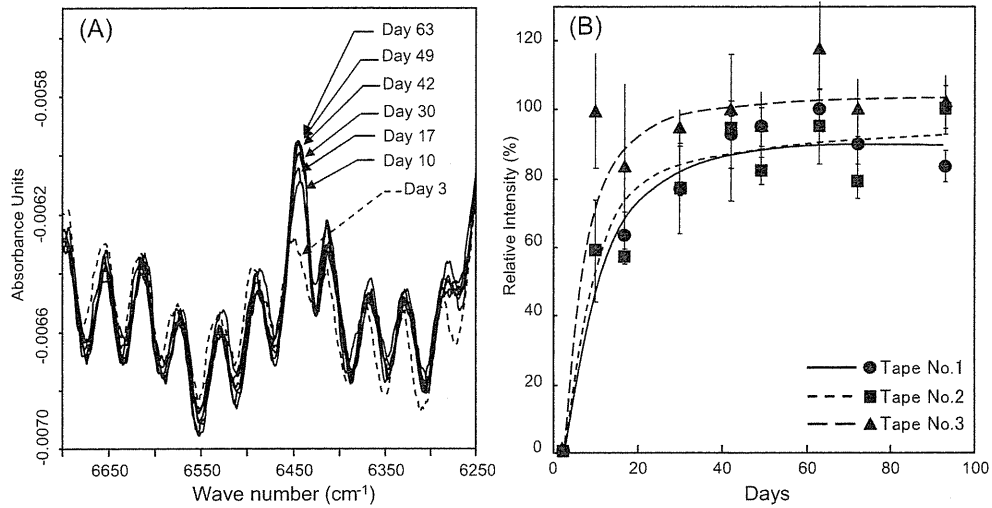


Fig. 8. (A) and (B) The time-course of peak intensities during the re-crystallization process after the melting of the TBR crystals, from day 3 to day 63 after the melting.

3.5. Chemical imaging of TBR crystals in matrix and time-course observations

Fig. 9 provides the NIR chemical images of the matrix of a model tape (R-10) and the corresponding area of the micro-photograph. The distribution of strong intensities based on a first overtone of secondary amine corresponded to the distribution of crystalline TBR which is observed in the micro-photograph.

Fig. 10 represents the NIR chemical images of the model tape (R-10) on days 2, 17, 23 and 37 in a 3-mm \times 3-mm area after the preparation. Although lumps of TBR crystals that were detected using NIRI were not observed in the model tape 2 days after the preparation, two spots which are the origin of the lumps of TBR crystals were identified on day 17. These spots became larger with the passage of time. A total of nine lumps of TBR crystals were observed in this measurement area on day 37. Thus, a time-dependent aspect of crystallization was observed.

The authors also observed a crystal lump formation process in a rubber matrix, using MLRSM [12]. The results showed that TBR crystals formed many small lumps, and these lumps grew independently in the matrices of the model tapes. The results of the present study support those observations.

The combination of the visible identification of crystals in a matrix and chemical information based on NIR spectrometry using the absorption from 6500 cm^{-1} to 6350 cm^{-1} of crystalline TBR offers a highly specific measurement approach.

3.6. Rapid measurement of TBR crystals distribution in the entire area of a transdermal tape by microscopic mapping

The authors used macroscopic mapping to measurements of four pieces of the model tapes obtained from one batch was performed. A heterogeneous distribution of TBR crystals was observed in the certain tapes (Fig. 11). Notably, only one lump of crystals was found in the tape No. 1. However, lumps of crystals were distributed over approximately a half of the area of the matrix of the tape No. 4. According to the chemical maps of lumps of TBR crystals in the tapes, single lumps of crystals and small groups of several lumps of crystals were observed. One tape contained numerous lumps of TBR crystals that looked like a mountain chain, based on a rough image with 3-mm spatial resolution. These macroscopic maps were all obtained using the same intensity range. Thus, not only a distribution of TBR crystals but also a rough quantity of it TBR crystals can be estimated.

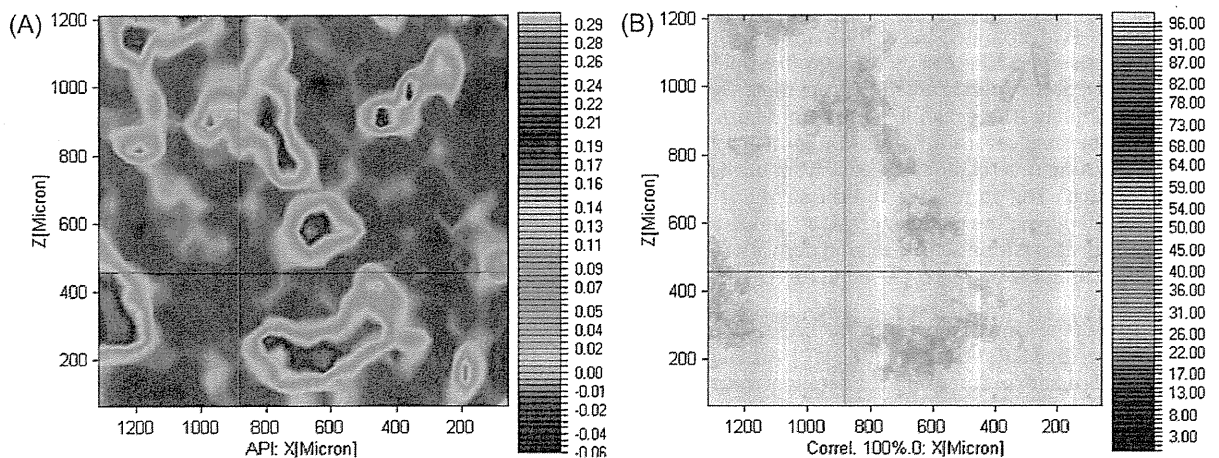


Fig. 9. NIR chemical image (A) and micro-photograph (B) of an R-10 model tape.

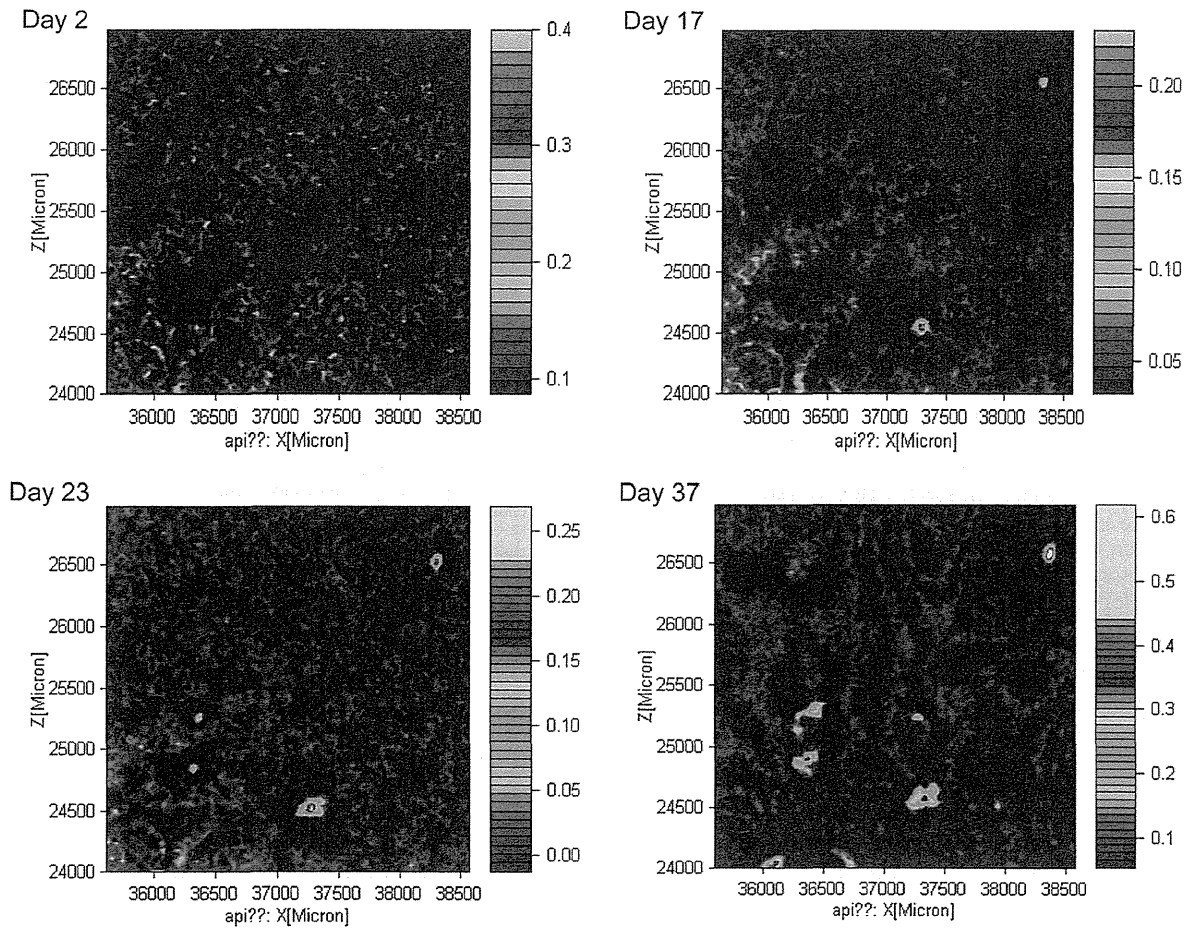


Fig. 10. Generation of TBR crystals in the model tape.

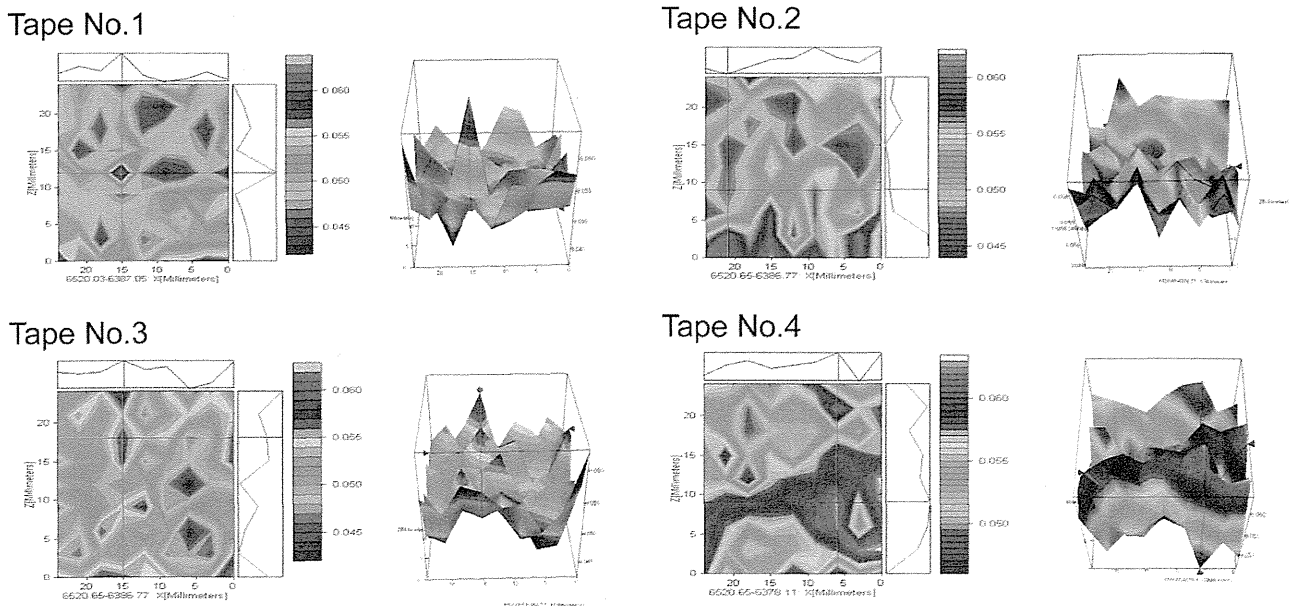


Fig. 11. NIR macroscopic maps of four commercial tapes obtained from the same batch.

Heterogeneity of the distribution and contents of TBR crystals in these model tapes was revealed by this approach, even though the model tapes were obtained from the same batch. If a heterogeneous distribution of TBR crystals will occur in each commercial tape, the pharmacological effects of the tapes may differ. The NIR spectroscopic and imaging techniques described herein will be useful to evaluate the homogeneity of TBR crystals in a matrix at the pharmaceutical development stage and/or in quality-control procedures.

4. Conclusion

The authors developed a method for determining the characteristics of TBR crystals in TDDS tapes using transmittance-reflectance NIR measurements. This method could be useful for quality evaluation for TBR TDDS tapes that have a crystal reservoir system. It is difficult to observe TBR crystals in a matrix through a supporting board and/or a liner in commercial tapes. Therefore, our method will contribute to the identification of TBR crystals in tapes which are in storage and/or on the market.

In addition, time-course measurements based on the characteristic absorption of crystalline TBR will also provide useful information for the estimation of an end-point of a crystallization process at a development stage, and for studies of crystallization mechanisms of an API in a matrix. The macroscopic mapping technique is advantageous for rapid analyses of the distribution of crystalline TBR, although only rough maps will be obtained. The authors obtained NIR measurements using a wavenumber range from 8000 cm^{-1} to 4000 cm^{-1} . But if the authors use a narrower wavenumber range which include the characteristic absorbance of a crystalline API to acquire a chemical maps, the authors would know a distribution of crystalline API in a matrix within a few minutes. A near infrared spectroscopy and imaging technique is useful as a non-destructive evaluation tool to secure the quality of TDDS pharmaceuticals.

Acknowledgements

This study was supported in part by a research grant from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan (H20-iyaku-ippan-004).

The authors thank Dr. Yukio Aso and Dr. Tamaki Miyazaki, Division of Drugs, National Institute of Health Sciences, for their kind cooperation regarding the polymorphs of TBR and the differential scanning calorimetry measurements. The authors thank Mr. Daisuke Sasakura, Mr. Tomoyuki Matsuzara and Mr. Tsuyoshi Miura, Bruker Optics K.K., for their kind assistance in the measurement of TDDS tapes using the NIR microscopic imaging system.

References

- [1] T. Uematsu, M. Nakano, K. Kosuge, M. Kanamaru, M. Nakashima, The pharmacokinetics of the beta 2-adrenoceptor agonist, tulobuterol given transdermally and by inhalation, *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 44 (1993) 361–364.
- [2] T. Horiguchi, R. Kondo, J. Miyazaki, K. Fukumoto, H. Torigoe, Clinical evaluation of a transdermal therapeutic system of β_2 -agonist tulobuterol in patients with mild or moderate persistent bronchial asthma, *Arzneimittelforschung* 54 (2004) 280–285.
- [3] Y. Iikura, H. Uchiyama, K. Akimoto, M. Ebisawa, N. Sakaguchi, T. Tsubaki, H. Ishizu, H. Kabayama, K. Yagi, K. Miura, Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the tulobuterol patch, HN-078, in childhood asthma, *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 74 (1995) 147–151.
- [4] T. Horiguchi, R. Kondo, J. Miyazaki, H. Torigoe, S. Tachikawa, Clinical evaluation of tulobuterol patch in patients with mild or moderate persistent bronchial asthma—effects of long-term treatment on airway inflammation and hyper-sensitivity, *Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi* 42 (2004) 132–137 (in Japanese).
- [5] H. Kato, O. Nagata, M. Yamazaki, T. Suzuki, Y. Nakano, Development of transdermal formulation of tulobuterol for the treatment of bronchial asthma, *Yakugaku Zasshi* 122 (2002) 57–69 (in Japanese).
- [6] M. Otsuka, F. Kato, Y. Matsuda, Comparative evaluation of the degree of indomethacin crystallinity by chemoinformetric Fourier-transformed near-infrared spectroscopy and conventional powder X-ray diffractometry, *AAPS PharmSci.* 2 (1) (2000) E9.
- [7] M. Otsuka, F. Kato, Y. Matsuda, Determination of indomethacin polymorphic contents by chemometric near-infrared spectroscopy and conventional powder X-ray, *Analyst* 126 (2001) 1578–1582.
- [8] A. Gambás, I. Antai, P. Szabó-Révész, S. Marton, I. Erős, Quantitative determination of crystallinity of alpha-lactose monohydrate by near infrared spectroscopy (NIRS), *Int. J. Pharm.* 256 (2003) 25–32.
- [9] S.J. Bai, M. Rani, R. Suryanarayanan, J.F. Carpenter, R. Nayar, M.C. Manning, Quantification of glycine crystallinity by near-infrared (NIR) spectroscopy, *J. Pharm. Sci.* 93 (2004) 2439–2447.
- [10] M. Savolainen, A. Heinz, C. Strachan, K.C. Gordon, J. Yliruusi, T. Rades, N. Sandler, Screening for differences in the amorphous state of indomethacin using multivariate visualization, *Eur. J. Pharm. Sci.* 30 (2007) 113–123.
- [11] M. Allesø, S. Velaga, A. Alhalaweh, C. Cornett, M.A. Rasmussen, F. van den Berg, H.L. de Diege, J. Rantanen, Near-infrared spectroscopy for cocrystal screening. A comparative study with Raman spectroscopy, *Anal. Chem.* 80 (2008) 7755–7764.
- [12] T.R. De Beer, P. Vercruyse, A. Burgraeve, T. Quinten, J. Ouyang, X. Zhang, C. Vervae, J.P. Remon, W.R. Baeyens, In-line and real-time process monitoring of a freeze drying process using Raman and NIR spectroscopy as complementary process analytical technology (PAT) tools, *J. Pharm. Sci.* 98 (2009) 3430–3446.
- [13] B. Connolly, T.W. Patapoff, Y.J. Wang, J.M. Moore, T.J. Kamerzell, Vibrational spectroscopy and chemometrics to characterize and quantitate trehalose crystallization, *Anal. Biochem.* 399 (2010) 48–57.
- [14] T. Sakamoto, T. Matsubara, D. Sasakura, Y. Takada, Y. Fujimaki, K. Aida, T. Miura, T. Terahara, N. Higo, T. Kawanishi, Y. Hiyama, Chemical mapping of tulobuterol in transdermal tapes using microscopic laser Raman spectroscopy, *Pharmazie* 64 (2009) 166–171.
- [15] T. Sakamoto, A. Portieri, P.F. Taday, Y. Takada, D. Sasakura, K. Aida, T. Matsubara, T. Miura, T. Terahara, D.D. Arnone, T. Kawanishi, Y. Hiyama, Detection of tulobuterol crystal in transdermal patches using terahertz pulsed spectroscopy and imaging, *Pharmazie* 64 (2009) 361–365.
- [16] J. Workman Jr., L. Weyer, *Practical Guide to Interpretive Near-Infrared Spectroscopy*, CRC Press, Florida, 2007.
- [17] M.R. Caira, S.A. Bourne, C.L. Oliver, Thermal and structural characterization of two polymorphs of the bronchodilator tulobuterol, *J. Therm. Anal. Calorim.* 77 (2004) 597–605.

ヒト化モノクローナル抗体製剤の攪拌により誘導された凝集体の 相対光散乱強度の動的散乱による測定

遠藤素子, 新見伸吾[#]

Determination of the relative light scattering intensity of aggregates induced by stirring of humanized monoclonal antibody product using dynamic light scattering

Motoko Endo and Shingo Niimi[#]

To evaluate the usefulness of dynamic light scattering for estimation of the relative level of aggregates in the manufacturing process of monoclonal antibody substance and its final product, the particle sizes and relative light scattering intensities of monomer and aggregates induced by stirring of humanized monoclonal antibody product were determined by dynamic light scattering. The particle sizes of monomer and aggregates were approximately 5 and 500 nm, respectively. When aggregates and monomer were mixed at the ratio of 1 to 6, the relative light scattering intensity of aggregates was approximately 50%. These findings indicate the relative light scattering intensity of aggregates is approximately 7 times higher than that of monomer. Furthermore, these findings suggest that dynamic light scattering may be useful for the estimation of relative content of aggregates in the case that the relationship between the particle sizes of monomer and aggregates, and their relative light scattering intensities has been already examined.

Keywords: aggregates, monoclonal antibody product, dynamic light scattering

1. はじめに

タンパク質性医薬品において、目的物質由来不純物である凝集体は目的物質に比べて活性が低下するだけでなく免疫原性の原因となる可能性が懸念されている^{1, 2)}。例えば、IFN- β 製剤では凝集体が通常のマウス及びトランスジェニックマウスにおいて抗体産生を誘導することが知られている³⁻⁵⁾。また、臨床における抗体の産生頻度と凝集体の割合が相関することも示唆されている^{6, 7)}。したがって、その上限値は可能な限り低く設定し、厳密に管理する必要がある。

しかしながら、高濃度で抗体医薬品を産生すると、小胞体に存在しフォールディングに関与する分子シャペロンに対する抗体医薬品の割合が過剰になり、フォールディングされない抗体医薬品が生じる。その結果、フォールディングされない抗体医薬品より凝集体が誘導され、その割合は最大30%に達する場合がある^{8, 9)}。抗体医薬

品の精製工程には、プロテインAクロマトグラフィーで酸性溶液 (pH約3) による溶出工程が含まれる。このような極端なpHに抗体医薬品が曝露されると、抗体医薬品の表面及び内部の荷電性極性基 (グルタミン酸、アスパラギン酸、リシン、アルギニン、ヒスチジン) の荷電状態が変化する。これによりクーロン相互作用 (荷電粒子間に働く力) によるストレスがかかり、抗体医薬品が変性する。変性した抗体医薬品は凝集体が誘導されやすい¹⁰⁾。また、1回の投与量が多く一般的に数十mg/mLの高濃度で処方されるため、製剤化、保存状況下で凝集体がさらに増加する可能性がある¹¹⁾。

凝集体の測定には、サイズ排除クロマトグラフィー、超遠心分析法、場流動分画、動的散乱法、SDS-PAGE、マイクロ・フロー・イメージング等が用いられている^{12, 13)}。その中で、動的散乱法は不溶性の凝集体も含め最大約5 μ mの粒子径を有する凝集体を、吸光度の測定と同様な簡単な操作で測定可能であり、用いるサンプルの容量も約30 μ Lと微量で測定時間も約数分と短い。ダイナミックレンジは他の測定法に比べて広く、希釈せずに測定できるので、凝集体の解離を回避することができる。また、相対光散乱強度は粒子径の6乗に比例して増大するため¹⁴⁾、高感度の測定が可能である。しかし、

[#] To whom correspondence should be addressed:

Shingo Niimi; Division of Biological Chemistry and Biologicals, National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan; Tel: +81-3-3700-9347 Fax: +81-3-3700-9084; E-mail: niimi@nihs.go.jp

定量的な関係が成り立つのは球状の場合でのみあり、形状が異なれば相対光散乱強度は異なるため定量的な測定はできない。

我々は抗体医薬品製剤をガラスバイアル中で攪拌することにより、大きな粒子径の凝集体を効果的に誘導できることを見出している¹⁵⁾。そこで同じ濃度の抗体医薬品製剤の単量体とこの方法で作製した凝集体の溶液を任意の比率で混合して動的光散乱で測定し、凝集体の含量と相対光散乱強度との関係について解析を行なった。

2. 方法

(1) サンプルの調製

ヒト化モノクローナル抗体製剤溶液を4度で保存した。実験開始時に25mMクエン酸ナトリウム (pH 6.0), 125mM塩化ナトリウムで0.1mg/mLに希釈した。

(2) 凝集体の誘導

直径1.4cmのガラスバイアルにサンプル1.2mLを入れ攪拌子を用いて250rpm, 室温で2.5時間攪拌した。コントロールとして攪拌しないサンプルを同様に調製した。

(3) 単量体, 凝集体, 単量体と凝集体の混合物の測定

単量体, 凝集体, 単量体と凝集体の様々な比の混合物の粒子径 (nm) 及び相対光散乱強度 (%) はMalvern社のZetasizer Nano-ZSにより測定した。

(4) 統計解析

データはStudent's t-testを用いて解析した。P値が0.05以下の場合には統計的に有意と考えた。

3. 結果と考察

Fig. 1に単量体, 凝集体及び凝集体と単量体の1対4の混合物の粒子径及び相対光散乱強度を示す。単量体は粒子径約5nmの位置に単一のピークを示した。一方, 凝集体は粒子径約500nmの位置に単一のピークを示した。凝集体と単量体の1対4の混合物における凝集体及び単量体の相対光散乱強度はそれぞれ61%及び39%であった。

Fig. 2に様々な比率の凝集体と単量体混合液における単量体の相対光散乱強度を示す。凝集体に対する単量体の比率を増加させると, 凝集体の相対光散乱強度は低下し, 1対6の比率で約50%に低下した。

凝集体が球状と仮定して算出された粒子径に基づくと, 凝集体の相対光散乱強度は単量体に比べて約100⁶高い値が計算される¹⁴⁾。しかし, 結果は約7倍であったことから, 凝集体は球状ではないことが示唆された。攪拌により誘導されるモノクローナル抗体の凝集体の形状のマイクロ・フロー・イメージングによる解析では, 細長い形状が観察されている¹⁶⁾。本実験で同様な攪拌により誘導された凝集体も細長い形状をしているため, 相対光散乱強度が弱いのかもかもしれない。

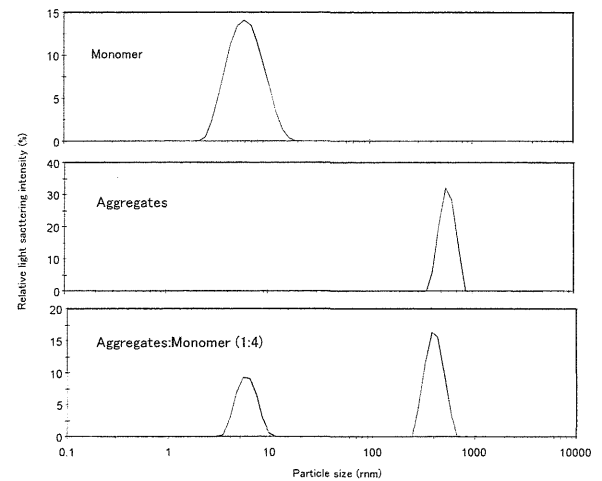


Fig. 1 Particle sizes and relative light scattering intensities of monomer, aggregates and mixture of aggregates and monomer (1:4) of humanized monoclonal antibody product. Humanized monoclonal product solution was transferred to glass vial and stirred at 250 rpm and ordinary temperature for 2.5 h. The solution containing aggregates was mixed with the solution containing monomer at the ratio of 1:4. The particle sizes and relative light scattering intensities of monomer, aggregates and mixture of aggregates and monomer were measured by dynamic light scattering. The data are representatives of 6 experiments.

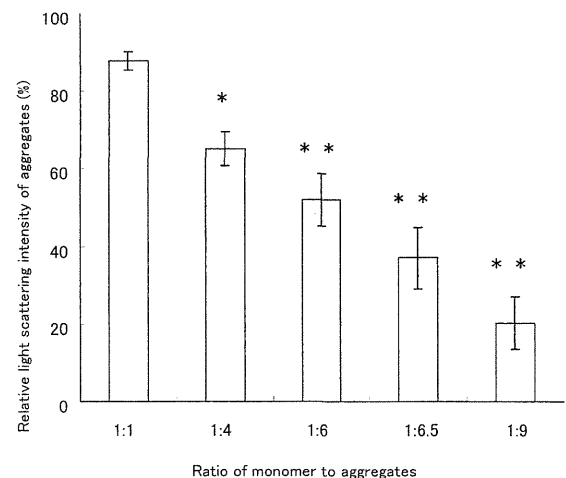


Fig. 2 Relative light scattering intensities of aggregates in the mixture of aggregates and monomer

The solution containing aggregates was mixed with the solution containing monomer at the different ratios. The relative light scattering intensities of aggregates were measured by dynamic light scattering. The data are expressed as the mean \pm S.D. of 6 experiments. * $p < 0.01$, ** $p < 0.05$, compared with the immediate left value.

したがって, 球状である場合を除き, 濃度が未知の単量体と凝集体のタンパク質混合溶液において, 動的光散乱により求めた粒子径と相対光散乱強度から凝集体の含量を推定することはできないことが再確認された。

本研究で検討を行なった濃度範囲で単量体と凝集体の比率を変えて調製した混合溶液における凝集体の相対光散乱強度の検量線は、1種類の粒子径の凝集体しか存在しない場合、凝集体含量の推定への活用が考えられる。今後、抗体医薬品の工程内管理試験及び最終製品における凝集体含量の推定において、このような観点からの動的散乱の活用が期待される。

謝 辞

本研究は平成23年度厚生労働科学研究費補助金、研究課題名「医薬品の製造・品質管理の高度化と国際化に対応した日本薬局方の改正のための研究」、研究代表者川西徹の研究助成金によって実施された。

引用文献

- 1) Rosenberg, A.S.: *AAPS J*, **8** (3), E501-507 (2006)
- 2) Schellekens, H.: *Nephrol Dial Transplant*, **20**, Suppl 6, vi3-9 (2005)
- 3) van Beers, M.M., Sauerborn, M., Gilli, F., Brinks, V., Schellekens, H., Jiskoot, W.: *Pharm Res*, **27** (9) 1812-1824 (2010)
- 4) Rifkin, R.A. Maggio, E.T. Dike, S. Kerr, D.A. Levy, M.: *J Neuroimmune Pharmacol*, **6** (1), 158-162 (2011)
- 5) Seefeldt, M.B. Rosendahl, M.S. Cleland, J.L. Hesterberg, L.K.: *Curr Pharm Biotechnol*, **10** (4), 447-455 (2009)
- 6) van Beers, M.M., Sauerborn, M., Gilli, F., Hermeling, S., Brinks, V., Schellekens, H., Jiskoot, W.: *J Immunol Methods*, **352** (1-2), 32-37 (2010)
- 7) Bertolotto, A., Deisenhammer, F., Gallo, P., Solberg Sorensen, P.: *J Neurol*, **251** Suppl 2, II15-II24 (2004)
- 8) Kramarczyk, J.F., Kelley, B.D., Coffman, J.L.: *Biotechnol Bioeng*, **100** (4), 707-720 (2008)
- 9) Mahler, H.C., Friess, W., Grauschopf, U., Kiese, S.: *J Pharm Sci*, **98** (10), 2909-2934 (2009)
- 10) Shukla, A.A. Hubbard, B. Tressel, T. Guhan, S. Low, D.: *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, **848** (1), 28-39 (2007)
- 11) Treuheit, M.J., Kosky, A.A., Brems, D.N.: *Pharm Res*, **19** (4), 511-516 (2002)
- 12) den Engelsman, J., Garidel, P., Smulders, R., Koll, H., Smith, B., Bassarab, S., Seidl, A., Hainzl, O., Jiskoot, W.: *Pharm Res*, **28** (4), 920-933
- 13) Narhi, L.O., Jiang, Y., Cao, S., Benedek, K., Shnek, D.: *Curr Pharm Biotechnol*, **10** (4), 373-381 (2009)
- 14) Dynamic Light Scattering: An Introduction in 30 Minutes <http://www.malvern.com/common/downloads/campaign/MRK656-01.pdf>
- 15) Niimi, S.: *Kokuritsu Iyakuhin Shokuhin Eisei Kenkyusho Hokoku*, **129**, 55-60 (2011)
- 16) Joubert, M.K., Luo, Q., Nashed-Samuel, Y., Wypych, J., Narhi, L.O.: *J Biol Chem*, **286** (28), 25118-25133 (2011)

2.1 口腔内崩壊錠の レギュレーション

1

第十六改正 日本薬局方製剤総則における「経口投与される製剤」 および「口腔内に適用する製剤」-口腔内崩壊錠の位置づけ-

国立医薬品食品衛生研究所

川西 徹

TORU KAWANISHI

はじめに

第十六改正 日本薬局方(日局16)は平成23年3月24日に告示されたが、日局16の最も大きい改正点として「製剤総則の改正」があげられる。この改正は50年ぶりの全面改正であり、

- ①口腔内崩壊錠等の医療現場で汎用されている医薬品製剤の取載
- ②これら医薬品製剤を投与経路および適用部位から分類
- ③製剤の機能の確保に必要な試験内容の充実
- ④製剤試験(および貯法)記載の整備
- ⑤国際調和への配慮

を基本方針として行い、国際的にも先導的な内容となっている。本稿では、本誌のテーマである「口腔内崩壊錠」が含まれる、経口的に投与される製剤について、日局16製剤総則における製剤分類、新たに取載した剤形、および各剤形において品質確保に必要な製剤試験に関する記載内容についてまとめるとともに、日本薬局方取載製剤における、口腔内崩壊錠の位置づけを解説する。

なお製剤総則改正内容全般については、他の解説^{1,2)}を参照されたい。

1 なぜ日本薬局方?

臨床現場で有用な医薬品を開発するためには、有効成分の開発とともに、ヒトに投与するための製剤の開発が両輪となる。また既存の有効成分であっても、新しい製剤が開発されることによって臨床での有用性が大きく増すことがある。本誌のテーマである「口腔内崩壊錠」もその典型的な剤形例である。1980年代後半に欧米で Zydys 技術(カーディナルヘルス)が紹介された後、本邦でも1997年にガスターOD錠(アステラス)の上市を皮切りに、次々と口腔内崩壊錠が製品化されており、現在、服用しやすい錠剤として嚥下困難な高齢者への処方割合

は高い。このような服用性、利便性等を高めた新しい製剤の開発は活発化しており、臨床現場で用いられる製剤は多様化をしている。

一方、医薬品はヒトに投与され、健康に直接関わる製品であることから、市販にあたっては当局に承認申請を行い、承認審査、認可を受ける公共性の高い工業製品という特徴を有する。したがって、医療現場で汎用される製剤については、公的な基準を明らかにすることが望ましい。わが国においては、このような公的な基準は通常、日本薬局方等の基準書、および厚生労働省の担当部局(現在は医薬品部局審査管理課)からの通知として示されている。

日本薬局方は薬事法によって「医療上重要と認められている医薬品の性状および品質などを定めた国定の医薬品規格基準集」と位置づけられる、法律に準じる基準書である。薬事法によって少なくとも10年に一度は全面改正することが求められており、第九改正(昭和51年)以降は5年ごとに全面改正が行われている。日本薬局方の製剤総則は医療現場で汎用される製剤を分類、定義し、それぞれについて製法、品質を保証するために必要な品質試験、品質を保持するための容器・包装、貯法等を示したものであり、局方取載医薬品製剤にとどまらず、わが国で販売される医薬品製剤の基本的な品質要件となるものである。

2 日局16製剤総則の改正理由

日本薬局方において、医薬品各条への記載でなく、製剤およびその関連品質管理事項を、独立した製剤総則としてまとめたのは日局6にさかのぼる。さらに日局7(1961年施行)において、主要な剤形をアイウエオ順に記載、それぞれ定義、製法を記した局方製剤総則のスタイルが完成し、以降、日局15までこのスタイルが引き継がれてきた。追加や部分的な改正はされているが、50年近くにわたって基本的な構成は変わっていない。そのため、

- ①口腔内崩壊錠等、現在、臨床現場で汎用されている数

多くの製剤が記載されていない

- ②分類、定義が適切でない製剤がある(エアゾール剤、液剤、散剤、顆粒剤等)
- ③各製剤の品質管理に必要な試験等の記載が不十分等の問題が生じていた。そこで7年の検討期間をかけて日局16の告示に合わせて、全面改正した。

3 経口的に投与する製剤の分類の考え方

日局16製剤総則では製剤をまず「投与経路および適用部位の別に11の製剤群に大分類し(生薬関連製剤は独立した群として分類した)、さらに剤形の形状、機能、特性から細分類する方法を採用した。分類にあたって、経口的に投与される製剤については、有効成分が消化管内で作用あるいは消化管から吸収されて作用する「経口投与する製剤」と、有効成分が口腔あるいは咽頭に作用あるいは口腔粘膜から吸収される「口腔内に適用する製剤」の区別の必要性の有無について議論が行われた。「経口投与する製剤」は、消化管内における薬物の溶出(吸収)または消化管内での作用を意図した製剤であり、品質管理上で消化管内pHでの溶出性が作用を左右する重要な品質特性である。一方「口腔内に適用する製剤」は、口腔内における薬物の溶出(吸収)または口腔内での作用を意図した製剤であり、口腔内pHでの溶出性が作用を左右する重要な品質特性となる。このように、両製剤では送達経路が異なるため、品質管理のために設定すべき放出試験条件は異なるものとなる。このような議論を経て、「口腔内に適用する製剤」を「経口投与する製剤」とは独立した製剤群として分類することとした(図1)。

4 日局16製剤総則：「経口投与する製剤」とは

「経口投与する製剤」に該当する剤形としては日局15製剤総則には、液剤、エリキシル剤、カプセル剤、顆粒剤、懸濁剤・乳剤、散剤、錠剤、シロップ剤、リモナーデ剤が記載されていた。しかし、その分類、定義には以下のような問題があった。

- ①液剤：品質確保上の留意点の異なる内用剤と外用剤が含まれており、また他の液状の剤形と区別するために、「液状の内用剤又は外用剤で、製剤総則中の他の製剤各条に該当しないものをいう」と不自然な定義、分類がされていた

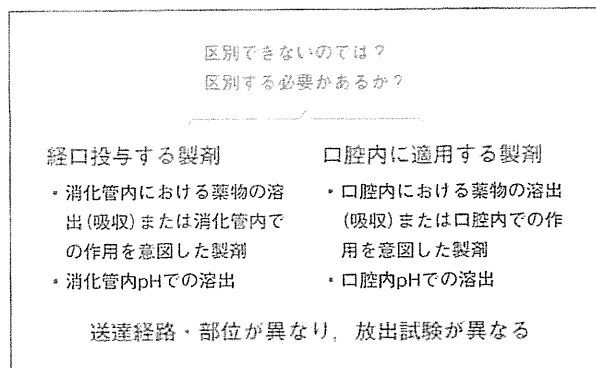


図1 日局16製剤総則における「経口投与する製剤」と「口腔内に適用する製剤」の区別

- ②エリキシル剤：液状の剤形であるにもかかわらず、液剤から独立した剤形とされ、分類が不自然であった
- ③懸濁剤・乳剤：液状の剤形であるにもかかわらず、液剤から独立した剤形とされ、分類が不自然であった
- ④口腔内崩壊錠、チュアブル錠、発泡錠、分散錠、溶解錠など：臨床で汎用されているこれらの剤形は記載されていなかった
- ⑤リモナーデ剤：液状の剤形であるにもかかわらず、液剤から独立した剤形とされ、分類が不自然であった
- ⑥経口ゼリー剤：臨床現場で汎用されているにもかかわらず、記載されていなかった
- ⑦散剤と顆粒剤が粒度試験によって一律に規定されており、欧米の局方の取り扱いと異なっていた

そこで、日局16製剤総則では、固形剤 > 液剤 > 半固形剤 > … > 用途別の記載順の一般原則にしたがって、経口投与する製剤として、錠剤、カプセル剤、顆粒剤、散剤、経口液剤、シロップ剤、経口ゼリー剤の順に中分類し、さらにそれぞれの製剤に分類される特徴のある剤形をあげ、小分類した(図2)。

(1) 錠剤

日局15製剤総則では錠剤1つにまとめられていたが、新たに口腔内崩壊錠、チュアブル錠、発泡錠、分散錠、溶解錠を錠剤に含まれる特殊な剤形として小分類し、それぞれを定義するとともに、形状あるいは製法上の特徴を示し、さらに品質試験、および製剤の機能として有すべき「適切な製剤特性」を示した。

口腔内崩壊錠は、服用水なしでPK試験が行われ、水なしで服用できるのが利点であるので、「水なしでも服用できる」ことを定義に加えるべきという意見もあった

第十六改正 日本薬局方製剤総則における「経口投与される製剤」および「口腔内に適用する製剤」

1. 経口投与する製剤		(JP15製剤)
1-1. 錠剤	←	15. 錠剤
素錠		糖衣錠
フィルムコーティング錠		フィルムコーティング錠
糖衣錠		多層錠
多層錠		有核錠
有核錠		
1-1-1. 口腔内崩壊錠		
1-1-2. チュアブル錠		
1-1-3. 発泡錠		
1-1-4. 分散錠		
1-1-5. 溶解錠		
1-2. カプセル剤	←	6. カプセル剤
硬カプセル剤		(1) 硬カプセル剤
軟カプセル剤		(2) 軟カプセル剤
1-3. 顆粒剤	←	7. 顆粒剤
1-3-1. 発泡顆粒剤		
1-4. 散剤	←	13. 散剤
1-5. 経口服液剤	←	3. 液剤の一部(内用)
1-5-1. エリキシル剤	←	5. エリキシル剤
1-5-2. 懸濁剤	}	11. 懸濁剤-乳剤
1-5-3. 乳剤		
1-5-4. リモナーゼ剤	←	27. リモナーゼ剤
1-6. シロップ剤	}	16. シロップ剤
1-6-1. シロップ用剤		
1-7. 経口ゼリー剤		

図2 日局16製剤総則における「経口投与する製剤」
下線部は新たに規定した製剤

が、水なしの服用については窒息事故の原因となる危険性もあり、安全性を考慮して定義には入れず、「口腔内で速やかに溶解又は崩壊させて服用できる製剤」とした。また口腔内崩壊錠では、錠剤一般に必要な標準的製剤試験以外に、崩壊性は管理すべき重要な品質特性であるが、一律の崩壊試験法の設定は時期尚早ということで、「本剤は、適切な崩壊性を有する」という表現とした。

チュアブル錠は、「咀嚼して服用する錠剤」と定義するとともに、「服用時の窒息を防止できる形状とする」とした。

ドロップ剤という製剤名が使われることもあるが、「口腔内に適用する製剤」であるトローチ剤あるいはチュアブル錠に含まれるので、食品のドロップとの混同を避ける意味からも剤形名として用いなかった。

なお、錠剤では、製法による分類として、日局15製剤総則と同様にフィルムコーティング錠、糖衣錠、多層錠、有核錠をあげるとともに、新たにコーティングなしの素錠をあげた。

(2) カプセル剤

日局15製剤総則の内容を踏襲し、製法あるいは貯法に関する記載整備にとどめた。

(3) 顆粒剤

日局15製剤総則では、散剤と顆粒剤はそれぞれ「粉状に製したもの」および「粉状あるいは微粒状に製したもの」と定義し、製剤の粒度の試験に用いる篩の目の大きさの違いによって、一律に分類していた。しかし、この分類および定義は、欧米薬局方におけるGranuleとPowderの定義と異なる。そこで、日局16製剤総則では、顆粒剤は「経口投与する粒状に造粒した製剤である」とした。また従来、散剤に含まれるとされていた剤形である細粒についても、造粒されているということから、顆粒剤の一部に分類することとした(詳細は他の解説¹⁾を参照)。

なお臨床で汎用されている発泡顆粒錠を顆粒剤に含まれる製剤としてあげ、定義および製法の特徴を記した。

(4) 散剤

日局16製剤総則では、粒径による分類ではなく、造粒の有無で顆粒剤と分類し、「経口投与する粉末状の製剤」と定義した(詳細は他の解説¹⁾を参照)。

なお、日局15製剤総則では触れられていなかったが、日局16製剤総則では医薬品の吸収に関わる重要な品質試験として、「溶出試験法への適合」を追記した。

(5) 経口服液剤

日局15製剤総則では液剤は、内用剤、外用剤の両者を含む剤形として定義されていた。日局16製剤総則では液状の剤形として、「経口投与する製剤」としての経口服液剤、「皮膚に適用する製剤」としての外用液剤、さらに「鼻に適用する製剤」としての点鼻液剤をあげ、別の製剤として分類した。

経口服液剤には、経口投与する液状の剤形だけでなく、流動性のある粘稠なゲル状の製剤も含む製剤と定義した(一方、流動性のないゼリー状の製剤は後述する経口ゼリー剤とした)。液状の剤形だけでなく、流動性のある粘稠なゲル状の経口服液剤も経口投与後、容易に有効成分が溶出される剤形であるので、溶出試験は必要とされない。

なお、日局15製剤総則に収載されていたエリキシル剤、乳濁剤、乳剤、リモナーゼ剤は経口服液剤に含まれる特殊な剤形として小分類し、それぞれ定義するとともに、製

造方法の特徴、あるいは必要とされる製剤試験を記した。例えば、懸濁剤では、「溶出試験法に適合する」ことを追記した。

(6) シロップ剤

日局16製剤総則ではシロップ剤は「経口投与する、糖類又は甘味料を含む粘稠性のある液状又は固形の製剤」と定義した。この定義は日局15製剤総則とほぼ同様であるが、日局16では、シロップ用剤(別名ドライシロップ)を取り上げ、「通例、用時溶解又は用時懸濁して用いる」。「水を加えるとき、シロップ剤となる顆粒状又は粉末状の製剤」と定義し、シロップ剤に含まれる剤形とした。

また日局16製剤総則では、通常の懸濁剤と同様に、懸濁したシロップ剤は「別に規定するもののほか、溶出試験法に適合する」とした。またシロップ用剤は、用時溶解する製剤以外については「別に規定するもののほか、溶出試験法又は崩壊試験法に適合する」とした。

(7) 経口ゼリー剤

近年、嚥下障害のある高齢患者向けの製剤として各種の経口ゲル状製剤が開発され市販されており、日局16製剤総則ではこれら製剤を「経口投与する製剤」に分類される製剤として記載した。その際、流動性があり一定の形状をなさない粘稠なゲル錠製剤は、上に記したように「経口液剤」に含まれるものとし、流動性のない成形したゲル状製剤は、「経口ゼリー剤」とした。

経口ゼリー剤は、溶出性、あるいは製品によっては崩壊性が吸収の律速となるので、経口液剤に含まれるゲル状製剤と異なり、「別に規定するもののほか、溶出試験法に適合する。又は適切な崩壊性を有する」とした。

5 日局16製剤総則：「口腔内に適用する製剤」とは

日局15製剤総則に記載されている製剤では、口腔内に適用する製剤としては、エアゾール剤の一部、錠剤の一部、トローチ剤があげられる。一方、日局16製剤総則では、「口腔内に適用する製剤」を大分類の1つと位置づけ、これに含まれる製剤として、口腔用錠剤、口腔用スプレー剤、口腔用半固形剤、含嗽剤の順に中分類した(図3)。

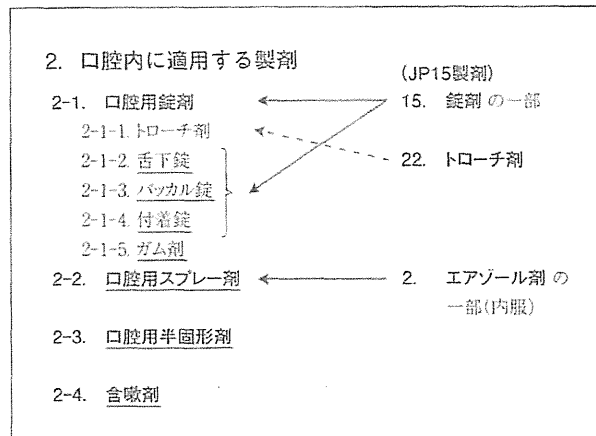


図3 日局16製剤総則における「口腔内に適用する製剤」
下線部は新たに規定した製剤

(1) 口腔用錠剤

口腔用錠剤は「口腔内に適用する一定の形状の固形の製剤」と定義した。口腔用錠剤に含まれる剤形として、日局15製剤総則に記載されていたトローチ剤のほか、新たに舌下錠、バッカル錠、付着剤、ガム剤をあげ、定義した。口腔用錠剤の場合、試験液のpH等の試験条件は異なるものの、「経口投与する製剤」の錠剤と品質確保に必要とされる試験項目等は同様である。

トローチ剤は日局15製剤総則にも記載されていた剤形であるが、日局16製剤総則では「口腔内で徐々に溶解又は崩壊させ、口腔、咽頭などの局所に適用する口腔用錠剤」と定義した。チュアブル錠と同様に、「服用時の窒息を防止できる形状とする」とした。

舌下錠は「有効成分を舌下で速やかに溶解させ、口腔粘膜から吸収させる口腔用錠剤」と定義した。

バッカル錠は「有効成分を臼歯と頬の間で徐々に溶解させ、口腔粘膜から吸収させる口腔用錠剤」とした。

付着錠は「口腔粘膜に付着して用いる口腔用錠剤」と定義し、ガム剤は「咀嚼により有効成分を放出する口腔用錠剤」と定義した。

(2) 口腔用スプレー剤

日局15製剤総則ではエアゾール剤は「医薬品の溶液、懸濁液などを、同一容器又は別の容器に充てんした液化ガス又は圧縮ガスの圧力により、用時噴出して用いるように製したもので、外用塗布、空間噴霧、吸入、内服などの目的に用いられ、噴出形態にはこれらの目的に応じて霧状、粉末状、泡沫状、ペースト状などがある」とされ、口腔用スプレー剤をはじめとして、品質管理に必要とされる試験が異なるさまざまな剤形を含んでおり、日局15

製剤総則の問題点の1つであった。そこで、日局16製剤総則ではそれぞれの製剤を独立させ、口腔用スプレー剤は「口腔内に適用する製剤」に分類するとともに、「口腔内に適用する、有効成分を霧状、粉末状、泡沫状又はペースト状などとして噴霧する製剤である」と定義した。

また、口腔用スプレー剤の中で定量噴霧式製剤については、「別に規定するもののほか、適切な噴霧量の均一性を有する」とした。噴霧量の均一性は日局16では一般試験法として設定されていない製剤特性であるが、欧米の局方では試験法が設定されており、これらの試験法を参考にし、日局にも一般試験法の導入を急ぐべきものと考えられる。

(3) 口腔用半固形剤

日局15製剤総則では触れられていなかったが、日局16では、「口腔内に適用する製剤」として、クリーム剤、ゲル剤や軟膏剤について、口腔用半固形剤として新たに収載した。

なお、本剤は、微生物の混入を防ぐ必要性の高い粘膜等に投与する製剤の1つであり、「多回投与容器に充てんするものは、微生物の発育を阻止するに足りる量の適切な保存料を加えることができる」とした。

また、製品ごとに個別の対応が必要と考えられるものの、製剤特性として「粘性」に言及し、「本剤は、口腔粘膜に適用する上で適切な粘性を有する」とした。

(4) 含嗽剤

日局16製剤総則で新たに収載し、「口腔、咽頭などの局所に適用する液状の製剤である。本剤には用時溶解する固形の製剤が含まれる」と定義した。また分包品は「別に規定するもののほか、製剤均一性試験法に適合する」とした。

6 欧米薬局方あるいは米国FDA ガイダンスにおける口腔内崩壊錠

口腔内崩壊錠は日局16製剤総則に、「経口投与される製剤」の中の「錠剤」に含まれる剤形として収載された。この分類は欧米での分類と同様であるが、以下に米国薬局方(USP)と欧州薬局方(EP)における口腔内崩壊錠の取り扱い、さらには米国食品医薬品局(FDA)が発出している口腔内崩壊錠ガイダンスの内容に触れる。

(1) USPにおける口腔内崩壊錠

USPでは日局製剤総則に相当する「医薬品剤形に関する章」³⁾(<1151>Pharmaceutical Dosage Forms)を改定中である。その改定案には、口腔内崩壊錠(orally disintegrating tablets)は、錠剤(TABLETS)に含まれる製剤と位置づけられており、「口腔内ですばやく崩壊し、懸濁物を飲み込む前に細かな分散状態となるように意図された錠剤」と定義されている。ただし、口腔内崩壊錠で必要とされる製剤試験については特に言及されていない。ただし、USPに記載されている製剤の各条をみると、崩壊性としてはUSP崩壊試験法<701>で60秒より速く崩壊するとされている製剤と、10秒より速く崩壊するとされている製剤がある。

(2) EPにおける口腔内崩壊錠

EPでは日局製剤総則に相当する医薬品剤形に関する章⁴⁾(DOSAGE FORMS)の錠剤(TABLETS)の項に口腔内崩壊錠(orodispersible tablets)があげられており、「飲み込む前に、口腔内ですばやく分散するように意図された素錠」と定義されている。また崩壊性の試験については、EP崩壊試験法(2.9.1)で3分以内に崩壊するとされている。

(3) 米国FDA口腔内崩壊錠ガイダンス

FDAは、2008年12月に口腔内崩壊錠の品質面に関する開発企業向けガイダンスを発出している⁵⁾。幼児や老人、あるいは嚥下が困難な患者、精神障害などのためコンプライアンスが難しい患者の処置にあたって有用であることを期待され、舌の上で簡単に服用できる製剤、すなわち唾液と接触することですばやく崩壊、溶出するように設計された製剤として口腔内崩壊錠が開発され、当初、このような口腔内崩壊錠を「舌の上に置いたとき、通常数秒以内ですばやく崩壊する医薬品活性成分を含んだ固形製剤」と定義した(1998年のCDER専門用語標準委員会)。しかし、その後、さまざまな技術・処方によって開発された製剤の当局への申請、審査の経験を加味し、これらの製剤の大多数は*in vitro*の崩壊時間はおおよそ30秒あるいはそれ以下であったことから、上記定義に加えて「米国薬局方(USP)の崩壊試験あるいは代替法に基づいたとき、*in vitro*の崩壊時間はおおよそ30秒あるいはそれ以下の時間で、口腔内ですばやく崩壊する内服固形製剤」と定義している。ただし30秒という値は望ましい数値ではあるが、口腔内崩壊錠を他の錠剤と区別するた

めの数字ではなく、重要なポイントは「水なし、あるいは嚙まずに服用することを意図した崩壊錠として適切な性能上の特徴を持つ」ことにあるとしている。

その他、製剤開発の間に考慮すべき品質特性としては、錠剤の大きさ、錠剤の重量、成分の溶解性、さらにはこのような特性が製品の意図した使用に与える影響をあげている。錠剤の大きさは定義に入れていないが、錠剤重量は一般的には500mgを超えないことを推奨する。製剤設計上やむを得ず500mgを超える場合は、錠剤が口腔内崩壊錠として効果的に機能することを示すべきである。

口腔内崩壊錠においては崩壊性が重要な品質特性であり、どのくらいで崩壊するかをみる製品試験が必須となる。しかし崩壊時間は用いる試験法に依存する。FDAではUSPの崩壊試験法を推奨している。ただし、USP法と相関性があるか、あるいはUSP法と同等の結果を与えることが示された方法を代替法として認めるとしている。

おわりに

口腔内崩壊錠の日局16における位置づけの理解の一助

として、日局16製剤総則における経口的に投与される製剤について、分類、定義、品質管理上、考慮すべき製剤特性について解説するとともに、欧米薬局方、あるいは品質ガイダンスにおける記載についてまとめた。口腔内崩壊錠等、患者にとっての服用性や利便性を高めた製剤開発は今後ますます活発化するものと思われる。これら製剤のうち臨床現場で汎用が予想されるものについては、その品質確保のためにも、公的な品質基準書への的確な収載に努めることが重要と考えている。

参考文献

- 1) 川西 徹：製剤総則の改正概要およびその影響, PHARM TECH JAPAN, 27, 15-22(2011)
- 2) 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団 編：日本薬局方技術情報2011, 11-19, じほう(2011)
- 3) <1151> Pharmaceutical Dosage Forms, *Pharmacopeial Forum*, 35, 1260-1310(2009)
- 4) DOSAGE FORMS, *European Pharmacopoeia* 7.0, 707-731 (2011)
- 5) Guidance for Industry: Orally Disintegrating Tablets, U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER) (2008)

口腔内崩壊錠の崩壊試験

国立医薬品食品衛生研究所

四方田千佳子

CHIKAKO YOMOTA

はじめに

口腔内崩壊錠の規制上の位置づけは、第一六改正 日本薬局方(16局)の製剤総則で、製剤名が新規に収載されたことで明らかとなった。その定義は

- (1)口腔内崩壊錠は、口腔内で速やかに溶解又は崩壊させて服用できる錠剤である。
(2)本剤は、適切な崩壊性を有する。

とされており、特に口腔内崩壊錠の大きな利点とされている水なしでの服用に関しては、安全性の観点から採用されていない。規格試験法では、普通錠と同様に溶出性を規定するほか、何らかの形で崩壊性を示すこととなっている。

1 口腔内崩壊錠の承認申請にあたって

口腔内崩壊錠の申請にあたっては、現在、普通錠とは異なる生物学的同等性試験が要求されている。これらの記載は、医薬品承認申請ガイドブック¹⁾の事例に基づく実務説明や、医薬品製造販売指針²⁾の承認申請ケース別添付資料一覧の中に記載されており、ガイドラインとして明確な位置づけにはない。既承認の普通錠の剤形違い(区分8の2)として口腔内崩壊錠を申請する場合には、普通錠(水で服用)と口腔内崩壊錠(水なしで服用)の組合せ、および普通錠(水で服用)と口腔内崩壊錠(水で服用)の組合せにおける生物学的同等性試験が要求されている。なお、前例のない口腔内崩壊錠の申請にあたって、口腔内からの吸収が認められるものは申請区分(3)の新投与経路医薬品となり、口腔内からの吸収は認められず、生物学的に同等でないものは申請区分(5)の新剤形医薬品、

口腔内からの吸収は認められず、生物学的に同等なものは申請区分(8)の剤形追加に係る医薬品申請となるため、申請区分を判断するためにも口腔粘膜からの吸収の有無に関する事前検討は必須のものとなる。ただし、申請区分(8)の申請にあたって、この事前検討結果については必ずしも添付資料としての提出は必要とされていない。

また、既承認の口腔内崩壊錠の後発品(区分10の3)を申請する場合には、既承認製剤(水なしで服用)と申請製剤(水なしで服用)の組合せ、および既承認製剤(水で服用)と申請製剤(水で服用)の組合せにおける生物学的同等性試験が要求されている。

わが国では、特に口腔内崩壊錠に関して記載したガイドラインはないが、FDA(米国食品医薬品局)は、2008年に口腔内崩壊錠に関するガイドラインを出している³⁾。この中で、口腔内崩壊錠の定義が取り上げられ、舌の上に置いただけで簡単に崩壊するように設計されたもので、唾液と接触することにより速やかに溶解あるいは崩壊するため、咀嚼や、錠剤をそのまま飲み込むことも、水で飲む必要もないものとされている。崩壊時間は多くの口腔内崩壊錠でほぼ30秒より短いと記載されているが、崩壊時間の30秒は推奨時間であって、必ずしも30秒以内である必要はない。開発時に考えなければならない特性として、噛む必要がなく、水を必要としないことがあげられており、例えば、崩壊時間が30秒以上の場合には、チュアブルあるいは通常錠として、噛むあるいは水で飲むことも考慮しなければならないとされている。また、製剤の大きさはコンプライアンスと安全性の観点から考慮されるべきで、質量500mg以下が推奨されている。崩壊時間の測定法に関しては、標準化と一定性の観点から局方の崩壊試験法が推奨されており、同様の結果が得られる場合には他の方法でも可能とされている。

EMA(欧州医薬品庁)では即放製剤に対する生物学的同等性(BE)ガイドライン⁴⁾が出され、そのAppendix II