

201235004A

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24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 四方田 千佳子

平成25(2013年)3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ポリソルベート 80 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

－マイクロスフェア製剤の薬物放出性に関する検討－

柴田寛子 ----- 23

4. リポソーム製剤のガイドライン試験法に関する検討

－リポソーム脂質二重膜の相転移挙動評価－

斎藤博幸 ----- 31

5. 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 ----- 41

添付資料 1 皮膚適用製剤等の放出試験法（案）

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 24 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、平成9年に発出されて以来の適用経験を踏まえて、平成24年2月に溶出試験を中心とする改訂を行った。そこで、本研究では、生物学的同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、経皮吸収型製剤等に関する放出試験法の日局収載に向けたドラフトの作成、坐剤の放出試験法に関する基礎的検討を試みた。特殊な製剤としてリポソーム製剤を取り上げ、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などの検討を行うと共にEMAのリフレクションペーパーを精査した。

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を継続し、リポソーム製剤に関しては、その薬物放出性を制御する因子の一つとして、脂質二重膜の相転移挙動の評価法の検討を行った。さらに、分散系製剤としてマイクロスフェア製剤を取り上げ、試験液組成等の薬物放出挙動に与える影響を評価した。前年度の皮膚適用製剤試験法案を縦型拡散セル法を追加して改訂し、日本薬局方収載案とした。また、坐薬につき、承認申請において規格試験法として採用されている溶融温度（融点）を測定し、その放出性の温度依存性と比較した。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、マイクロスフィア、
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部
食品化学課

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、その後、平成 9 年に「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、新薬における変更管理にも重要な役割を果たしてきた。

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、溶出試験の試験条件に関して詳細な記述があり、試験条件に対する縛りが強くなっている傾向があった。平成 9 年以来の生物学的同等性試験の経験を基に、溶出試験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、マクロスフェア製剤に関する基礎的検討を進めた。

さらに、経皮吸収製剤等における放出試験法案を日局収載案として提案し、坐剤の放出試験法に関しては、規格試験法に設定されている溶融温度試験の有効性を確認した。

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、シロスタゾール錠を用い、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)、タウロコール酸を用いて、溶出試験を試みた。

B-2. 溶出試験に使用されるポリソルベート 80 の品質に関する研究

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ポリソルベート 80 (PS80) 試薬につき、10 種類の市販試薬について、理化学的な品質を評価し、溶出試験結果に及ぼす影響を検討した。ナブメトン酸 400mg 錠 (レリフェン錠 400mg)、リボフラビン酪酸 40mg 錠 (ハイボン錠 40mg) 及びアリルエストレノール 25mg 錠 (パーセリン錠 25mg) を試験製剤とし、市販の PS80 試薬(販売メーカー：6 社, 10 種類)を使用した。

B-3. 脂質分散系製剤の製剤評価法に関する研究—マイクロスフェア製剤の薬物放出性に関する検討—

市販マイクロスフェア製剤(リスパダールコンスタ)を対象に、試験液組成等の薬物放出挙動に与える影響を評価するとともに、2 種類の手法, ”試料と分離方式”と”連続フロー方式”を用いて、薬物放出性の評価を試みた。”試料と分離方式”は、試料をサンプル瓶に入れ、各試験液を加えて、恒温槽に入れる。試験液採取時には、サンプル瓶を静かに回して攪拌後 10 分静置し、試験液を採取し、分析した。連続フロー方式”は、フロースルーセル法溶出試験装置を用い、クローズドシステムとして使用した。試験液の流速は 8 ml/min とした。直径 12 mm のセルの場合、直径約 1 mm のガラスビーズと量り取った製剤 20 mg を 3 回に分けて交互に入れ軽く混ぜた後、0.7 μ m と 2.7 μ m のガラスフィルターを取り付けた。散剤・顆粒剤用のセルを用いた場合、製剤はガラスビーズと混ぜることなく、ドーム型のメッシュの下にセットした。試験液がセルの中に入ったと同時に UV 検出器による検出を開

始した。

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—リポソーム脂質二重膜の相転移挙動評価—

SC 測定に用いた HSPC あるいは SPC/cholesterol 多重層ベシクル (MLV) はバンガム法によって調製した。Prodan 標識したリポソームは、励起波長 361 nm, 測定波長 380~600 nm の範囲で蛍光スペクトル測定を行った。Laurdan については、励起波長 350 nm, 測定波長 370~600 nm で蛍光観察を行った。差走査熱量測定 (DSC) は、昇温速度 45 $^{\circ}$ C/h, 開始温度 20 $^{\circ}$ C, 終了温度 80 $^{\circ}$ C とし、得られたデータは MicroCal ORIGIN を用いて解析した。

B-5. 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

経皮吸収型製剤等の放出試験法は、昨年度の案に縦型拡散セル法を加え、日局収載原案として提案した。坐剤の放出試験法に関する基礎検討では、回転セル法による放出試験の結果を、溶融試験温度(融点)と、示差走査熱量計 (DSC) による製剤の熱的性質とで比較検討した。

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

シロスタゾール錠は局方収載製剤で、溶出性は試験液に 0.3% SDS 水溶液を用い、パドル法により、毎分 50 回転で試験を行っている。医療用医薬品品質情報集⁴⁾によると、シロスタゾール(図 1)は解離基を持たず、製剤の溶出挙動は 0.3% SDS 添加の場合、4 液性による溶出性に差が見られない。今回使用した製剤の結果からも、いずれの界面活性剤においても液性による可溶化能の顕著な差は見られなかった。シロスタゾール錠に関しては、これまでのソファルコン錠及びプラナルカスト水和物錠と異なり、PS, TC 又は SDS 添加時の溶出挙動がいずれの液性においても明らかに異なり、界面活性剤間で可溶化能に大きな差が認められた。しかし、SDS の 0.3% 以下を除いて、液性による溶出率の差は小さかった。

今後更に異なる特性の製剤で検討を加えると共に、界面活性剤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。

C-2. 溶出試験に使用されるポリソルベート 80 の品質に関する研究

PS80 試薬の色調は全て、性状の項に記載された範囲内であったが、色合いは大きく異なってい

た。PS80 試薬の 5.0w/v%水溶液を調製し、pH を測定したところ、pH は、5.73~6.73 の範囲であり、日局「ポリソルベート 80」の性状の項の液性

(pH5.5~pH7.5) を満たしていたが、PS80-F 及び PS80-I が若干低い値を示した。日局「ポリソルベート 80」の規格のうち、品質への影響が大きいと考えられる酸価、けん化価及びヨウ素価を測定したところ、規格範囲内ではあるが、けん化価及びヨウ素価は、ほぼ同一の値を示したが、酸価は、大きく異なっていた。PS80-F の酸価は、日局の規格上限値(2.0 以下)付近であり、PS80-A の約 5 倍の値を示した。酸価は、油脂中の遊離脂肪酸含量を示しており、通常、精製が進むに従い低下する。精製度が高いと考えられる、ほぼ「無色」の PS80-F が最も高い値 (1.88) を示し、「だいたい黄色」に近い PS80-A が最も低い値 (0.38) を示した。市販の PS80 試薬の赤外吸収スペクトルには、水分含量の差に基づく若干の相違が認められるものの、品質上の問題は確認できなかった。

以上の結果をふまえ、3 種類の理化学的品質が異なる PS80 試薬を使用し、ナブメトン錠、酪酸リボフラビン錠、アリルエストレノール錠について溶出試験を行った。これらの製剤は全て、局外規第三部に溶出試験が記載されており、比較的高濃度の PS80 試薬を使用する製剤である。PS80-A、E、F を用いた場合の溶出挙動は類似しており、3 種類の試験製剤とも、使用する試薬による溶出性の差は確認できなかった。

C-3.脂質分散系製剤の製剤評価法に関する研究—マイクロスフェア製剤の薬物放出性に関する検討—

”試料と分離方式”により、代表的な生理的緩衝液である PBS と HBS、その他、生理食塩水と精製水におけるリスパダールコンスタからの薬物放出挙動を観察した。PBS ポリソルベート 20 添加の場合、主な放出が始まるまでラグタイムがおおよそ 25 日あり、薬物放出相の後、40 日後には放出率は 90%以上となった。PBS の方がやや速いが、PBS と HBS はよく似た放出挙動を示した。生理食塩水の場合、PBS や HBS とラグタイムは同じ 25 日くらいであるが、放出速度が遅く、40 日経っても放出率は 80%に満たなかった。精製水の場合、他の試験液とは全く異なる放出挙動が認められ、ラグタイムは殆ど無く、試験開始から徐々に薬物放出率が上昇し、25 日過ぎには 100%に達した。放出挙動の差には試験液の浸透圧や pH が影響しているものと考えられる。そこで浸透圧(塩濃度)と pH の異なる緩衝液で薬物放出挙動を観察したところ、塩化ナトリウム濃度 100 mM ではラグタイムがおおよそ 25 日と PBS(塩化ナトリウム濃度 150 mM)と同様の放出

挙動が認められたが、それ以下では濃度が低いほどラグタイムが短く、初期の段階から明確な薬物が観察された。pH5.5 および 7.5 のリン酸緩衝液と pH 10.5 の炭酸緩衝液を比較したところ、pH が低いほど薬物放出が速くなる傾向が認められた。

37°Cにおけるポリソルベート 20 添加 PBS および HBS で観察された in vitro 累積放出率は、in vivo 累積 AUC 率とある程度相関していると言える。

“試料と分離方式”で、試験温度を上げた加速放出試験法を試みたところ、ポリソルベート 20 0.01% 添加 PBS において、37°Cではラグタイム約 25 日、50% 放出点は約 31 日であったのに対し、45°Cではラグタイム約 5 日、50%放出点は約 6 日と、試験温度を 45°C に上げることで、薬物放出速度がおおよそ 5 倍速くなることが確かめられた。温度を上げても同じメカニズムで薬物が放出されているものと考えられた。

“連続フロー方式”による放出性評価では、まずは通常の錠剤などに使われる直径 12mm のセルにリスパダールコンスタをガラスビーズと混合して入れ、ポリソルベート 20 0.01% 添加 PBS 中で放出挙動を観察した。”試料と分離方式”で観察された放出挙動と殆ど同じであり、50%放出点も 5.51 日であることから、試験方法の違いによる放出挙動の差は無いものと考えられた。しかし、各セル間での溶出の差が大きく、製剤とガラスビーズの混ざり方で差が生じると思われたため、散剤・顆粒剤用のセルの適用を試みた。散剤・顆粒剤用のセルはフィルター/メッシュで仕切られた空間に製剤を入れ、さらに製剤の上にドーム型の網を置くことで製剤が固まることなく試験液中に均一に分散するよう設計されている。ガラスビーズと混合しなくても適切に評価できるものと考え、散剤・顆粒剤用のセルを使って放出挙動の評価を試みた。その結果、全てのセルで同じ放出挙動が得られることが判明した。

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—リポソーム脂質二重膜の相転移挙動評価—

HSPC リポソームの prodan 蛍光スペクトルの温度変化から、ホスファチジルコリン (PC) 分子によって形成される二重膜の相状態は、温度上昇に伴い、疎水鎖が全てトランス型かつ膜面に対しておおよそ 30° 傾いたラメラゲル (L_{β}) 相から、 L_{β} 相の親水部のパッキングが変化し波型になったリップルゲル (P_{β}) 相を経て、疎水鎖が融解し流動性が増加した液晶 (L_{α}) 相へと変化する。この際、 $L_{\beta} \rightarrow P_{\beta}$ への相転移を前転移 (pretransition)、 $P_{\beta} \rightarrow L_{\alpha}$ への転移を主転移 (main transition) とよぶ。prodan 蛍光極大波長は、45~47°C付近で 440 nm から 470 nm へ、50

～53℃付近で470 nm から490 nm へ、急激な変化が観察された。この変化は prodan 分子の脂質二重膜中での垂直分布の変化によるものと考えられ、それぞれの温度領域での脂質二重膜の相転移（前転移と主転移）に伴う prodan 分子周辺の局所的な極性変化を反映していると考えられた。

コレステロール分率を変化させた HSPC リポソームにおける prodan 蛍光極大波長の温度依存性から、コレステロールを含有するリポソームでは prodan 蛍光極大波長の二段階変化が見られず、前転移は不明瞭であった。

HSPC-コレステロール混合二重膜の DSC 測定から、コレステロールを含まない HSPC リポソームでは 47.8℃と 53.6℃をそれぞれピークとする前転移と主転移が観察され、prodan 蛍光極大波長の温度変化領域と一致した。

PEG 修飾した HSPC-コレステロールリポソーム二重膜についても prodan 蛍光測定を行ったが、PEG 鎖の有無による prodan 蛍光極大波長の温度依存性にほとんど違いが見られず、HSPC-コレステロール二重膜の相図に対して、PEG 修飾による影響はほとんどないものと考えられた。

C-5. 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

皮膚適用製剤の放出試験では、最終年度にあたり、皮膚適用製剤の放出試験法案を、パドルオーバーディスク法、回転シリンダー法及び拡散セル法の三測定法を取り込んだものとし、判定法などの記載ミスを修正し、局方審議委員会へ提案し、収載へ向けた動きを開始した。

坐剤の放出試験をフローズルーセル法と回転セルを用いて検討し、試験液の温度が36℃～38℃と変わるにつれて放出性が大きく変化する製剤があること、製剤からの薬物の放出性は DSC 測定結果とかなりの相関があることを示してきた。承認申請において、座剤の規格試験法には熔融温度試験が設定されてきており、日局融点測定法第2法で測定するとき0～0℃で熔融すると規定されている。そこで、放出性に大きな温度変化があった製剤の融点測定を試み、融点と放出性の関係を検討し、DSC 測定の結果と比較検討したところ、融点測定と放出性にも良い相関が認められ、品質管理的な観点からは、融点測定も十分に機能を果たしていると思われた。

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 シロスタゾール錠について、水、pH6.8、pH4.0 及び pH1.2 の試験液に、界面活性剤として SDS、PS 又は TC の濃度を変えて添加し、溶出試験を実施した。その結果、いずれの試験液においても溶出率は SDS>>PS>TC の順であり、本製剤に関しては、界面活性剤によっていずれの試験液においても可溶化能に大きな差が認められた。

一方、試験液の違いによる可溶化能について、PS 及び TC においては顕著な差は見られなかった。しかし、アニオン性界面活性剤である SDS の場合は試験液によって臨界ミセル濃度がシフトする傾向が観察され、臨界ミセル濃度付近の濃度においては製剤や試験条件によって溶出挙動が変動する可能性があることが明らかとなった。

D-2. 溶出試験に使用されるポリソルベート 80 の品質に関する研究

これまで、溶出試験に使用される界面活性剤であるラウリル硫酸ナトリウム (SDS) 試薬の品質が、溶出性に及ぼす影響について検討し、SDS 以外のアルキル硫酸ナトリウムが高い割合で混在する SDS 試薬が市販品の中に見受けられ、溶出試験に適用した場合、溶出率を上昇させることを明らかにしてきた。また、SDS 試薬を溶解したときの pH の違いが、溶出性に影響を及ぼすことも報告している。本年度検討対象とした PS80 では、市販試薬間で、溶出試験結果に大きな差は認められず、SDS のような使用した試薬による溶出試験への影響は無視できる程度と考えられる。

D-3. 脂質分散系製剤の製剤評価法に関する研究—マイクロスフェア製剤の薬物放出性に関する検討—

試験液組成等の薬物放出挙動に与える影響を評価したところ、塩濃度が低いほど薬物放出の開始が速くなる現象が認められ、これは浸透圧が低いために製剤の水吸着/膨潤が進み、薬物の拡散が促進されたものと推測される。精製水において試験開始から薬物放出が認められたのは、浸透圧が低いことが影響しているものと考えられた。また pH は低いほど主な薬物放出の開始点が速くなる傾向が認められたが、pH が低いほど封入薬物であるリスペリドンの溶解度は高いことが知られており、各 pH における溶解度の差が影響したものと考えられる。浸透圧や pH が薬物放出性に影響を与える機序を明らかにするには、リスペリドンの溶解度や試験中の pH 変化、マイクロスフェアからの薬物放出メカニズムなどを調査する必要があり、今後の課題である。

”試料と分離方式”と“連続フロー方式”を比較し

たところ、両者に明確な差は認められなかった。しかしながら今回の検討では、“試料と分離方式”は試料を静置した状態のみで実施し、“連続フロー方式”は一定の流速(8ml/min)でしか放出性を評価していない。従って、“試料と分離方式”では攪拌した状態や、“連続フロー方式”ではもっと遅い/速い流速における薬物放出性の評価など、製剤に与える水力学的影響も今後検討する必要がある。

“連続フロー方式”の検討では、散剤・顆粒剤用のセルを使うことでセル間の放出挙動の差が解消された。リスパダールコンスタからの薬物放出性については温度の影響が大きいことが知られており、1.0℃異なる温度で試験したところ、50%放出点が1.5日遅くなることを確認している。温度の影響が大きい製剤については、より精密な温度制御が可能な装置を使用するほうが望ましいと考えられた。

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ーリポソーム脂質二重膜の相転移挙動評価ー

リポソーム脂質二重膜の相転移温度及び相状態は、リポソーム製剤の粒子安定性や薬物放出性を規定する物理化学的特性の一つとして重要である。本研究では、DSC 測定に加えて環境感受性蛍光プローブである prodan の蛍光スペクトル測定を用いることで、HSPC-コレステロールリポソーム二重膜の相図を作成し、その熱的相転移挙動の俯瞰的解析を行い、作成した相図から、 $X_{ch} > 0.02$ における前転移の消失、 $X_{ch} = 0.07$ での調和融点の存在、 $X_{ch} > 0.4$ での単一な秩序液体(L_0)相の存在などが示された。これら変化点の組成は六方格子モデルに基づくコレステロール分子の規則的分布とよく一致し、DSC 測定とともに環境感受性蛍光プローブ測定の脂質二重膜相転移評価法としての有用性が示された。

また、PEG 修飾による脂質二重膜への影響について蛍光プローブを用いて検討したところ、液晶状態の脂質二重膜では PEG 鎖が二重膜中へ侵入していることが示唆された。一般に、ゲル状態の場合と比較して液晶状態の二重膜では内封薬物の漏れが大きいことが知られている。また最近の研究では、43℃付近でのがん温熱療法における PEG 修飾リポソームからの薬物放出量を比較すると、PEG 未修飾リポソームと比べて PEG 修飾リポソームの方が大きいことが報告されている。今回の蛍光プローブ測定結果と合わせて、PEG 鎖と液晶状態の脂質二重膜との疎水的相互作用によって、温度などの外部刺激に対する PEG 修飾リポソームからの薬物放出性が変化している可能性が示唆される。

D-5. 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

皮膚適用製剤の試験法案をほぼ確立し、日本薬局方原案審議委員会製剤委員会の下に設置された製剤ワーキンググループに提案し、本研究班の検討を終了した。

基剤の熱的性質を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。基剤の特性は DSC 測定の方が放出率との相関性はやや高いものの、熔融温度ともかなり良好な相関が認められ、坐剤の熔融温度測定は、坐剤の品質管理に十分に有用であると思われた。

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

シロスタゾール錠について、水、pH6.8、pH4.0 及び pH1.2 の試験液に、界面活性剤として SDS、PS 又は TC の濃度を変えて添加し、溶出試験を実施した。その結果、いずれの試験液においても溶出率は SDS>>PS>TC の順であり、本製剤に関しては、界面活性剤によっていずれの試験液においても可溶化能に大きな差が認められた。

一方、試験液の違いによる可溶化能について、PS 及び TC においては顕著な差は見られなかった。しかし、アニオン性界面活性剤である SDS の場合は試験液によって臨界ミセル濃度がシフトする傾向が観察され、臨界ミセル濃度付近の濃度においては製剤や試験条件によって溶出挙動が変動する可能性があることが明らかとなった。

E-2. 溶出試験に使用されるポリソルベート 80 の品質に関する研究

市販 PS80 試薬 10 種類の試薬特性を比較し、最も特性の異なる 3 種類の試薬を用いて、モデル製剤の溶出試験を実施し、溶出性に及ぼす影響をけんとうしたところ、PS80 の違いによる溶出挙動の差は確認できなかった。

E-3. 脂質分散系製剤の製剤評価法に関する研究ーマイクロスフェア製剤の薬物放出性に関する検討ー

リスパダールコンスタを対象に試験液組成の薬物放出性に与える影響を検討し、生理的環境に近い浸透圧と pH の緩衝液であれば、in vivo における薬物放出とある程度相関した in vitro 薬物放出挙動を観察できることを確認した。同じ温度・試験液であれば 2 種類の的方法、“試料と分離方式”と“連続フロー方式”で放出挙動に明確な差は無いことを示した。ただし、“連続フロー方式”ではセルの選択や温度制御に注

意が必要である。

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ーリポソーム脂質二重膜の相転移挙動評価ー

本研究で用いた環境感受性蛍光プローブ測定やDSC測定が、脂質二重膜の相転移挙動を評価するうえで有用であることが示された。両手法を併用することで、リポソーム二重膜の包括的な相図作成が可能であり、温度や脂質組成の制御によるリポソーム製剤の開発やその薬物放出性などの品質管理において、重要な指標となると考えられる。

E-5. 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局方への収載を進めることとした。

座剤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℃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. 学会発表

- 1)北山裕貴, 新村航, 四方田千佳子, 斎藤博幸: リポソームの PEG 修飾法による表面物性の変化. 日本薬剤学会第 27 年会 (2012. 5. 24-26 神戸)
- 2) Hiroko Shibata, Chikako Yomota, Haruhiro Okuda: Polyethylene glycol prevents in vitro aggregation of liposomes induced by heparin in the presence of bivalent ions AAPS (2012.10)

2. 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ポリソルベート80の品質に関する研究, 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 43(7), 650-655 (2012).
- 2) Shibata H, Saito H, Yomota C, Kawanishi T, Okuda H. : Alterations in the Detergent-Induced Membrane Permeability and Solubilization of Saturated Phosphatidylcholine/Cholesterol Liposomes: Effects of Poly(ethylene glycol)-Conjugated Lipid. Chem Pharm Bull (Tokyo). 2012;60(9):1105-11.

- 3) Shibata H, Saito H, Kawanishi T, Okuda H, Yomota C. : Comparison of particle size and dispersion state among commercial cyclosporine formulations and their effects on pharmacokinetics in rats. Chem Pharm Bull (Tokyo). 2012;60(8):967-75.
- 4) Shibata H, Yomota C, Kawanishi T, Okuda H. : Polyethylene glycol prevents in vitro aggregation of slightly negatively-charged liposomes induced by heparin in the presence of bivalent ions. Biol Pharm Bull 2012;35(11):2081-72.
- 5)北山裕貴, 新村航, 四方田千佳子, 斎藤博幸: ポストインサーション法によって調整した PEG 修飾リポソームの表面物性に関する研究. 膜 (MEMBRANE), 38 (1), 50-56 (2013)

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし

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

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

分担研究者 岸本清子 東京都健康安全研究センター

(研究要旨)難溶性薬物の製剤であるシロスタゾール錠について、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。

市販のシロスタゾール錠について、pH1.2, pH4.0, pH6.8 及び水の試験液に、界面活性剤としてラウリル硫酸ナトリウム(SDS), ポリソルベート 80 (PS) 及びタウロコール酸 (TC) 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、シロスタゾール錠に関しては、4 液性による顕著な差は認められなかったが、SDS の臨界ミセル濃度付近を境に SDS と PS 及び TC の溶出率が大きく異なり、可溶化能に差が認められた。また、SDS の場合は試験液によって臨界ミセル濃度が異なり、塩濃度の違いによると思われる低濃度側へのシフトが観察された。SDS を使用する場合には臨界ミセル濃度付近の不安定な溶出挙動を考慮し、濃度設定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。

近年の医薬品開発においては、難溶性薬物が多く見受けられる。難溶性薬物を投与した場合、低溶解性による吸収率の低下や、消化管内環境の影響を大きく受けて、治療効果のバラツキを生じることが懸念されるため、様々な方法で可溶化して溶出性を改善した製剤が製造されている。これら多様な製剤の同等性確認に対処すべく、これまでガイドラインでは難溶性薬物に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、ドデシル硫酸ナトリウム (SDS) の使用が認められた。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、ポリソルベート 80 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。」とされている²⁾。

本研究では、初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⁾、次年度の更に難溶性の高いプラニルカスト水和物錠⁴⁾に続いて、今年度は溶出性が pH に依存しないシロスタゾール錠について、溶出試験における SDS, PS 及び TC の添加効果について検討した。

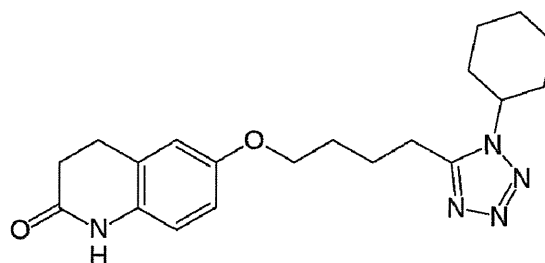


図1 シロスタゾールの構造式

B.研究方法

1.製剤

市販のシロスタゾール錠50mg「ファイザー」を試験製剤として用いた。

2.界面活性剤

以下の3種類の試薬を用いた。

SDS:ドデシル硫酸ナトリウム・ペレット, 研究用 (Serva Electrophoresis GmbH).

PS:ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノオレート・化学用, 和光純薬工業株式会社製。

TC:タウロコール酸ナトリウム・和光特級, 和光純薬工業株式会社製。

3.試験液

水は純水製造装置により製造した精製水を用いた。溶出試験第1液・pH1.2(pH1.2), 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。

4.標準品

シロスタゾール標準品は和光純薬工業株式会社製・薬理研究用を使用した。

5.溶出試験

ガイドラインに準じて, 溶出試験を実施した。即ちパドル法により, 毎分50回転で行い, 波長257nmにおける吸光度を測定した。試験液の採取は, ガイドラインで定められた間隔で行い, 3時間までとした。また溶出率は, TC使用時はn=3の平均値, その他はn=6の平均値を用いた。

界面活性剤の添加濃度については, 全ての液性で, SDSは0.0~0.5%, PSは0.0~1.0%, TCの場合は0.0~0.3%とし, 試験液の脱気条件は, 45°C, 2時間加温とした。

6.装置

溶出試験装置:株式会社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:株式会社島津製作所製 UV-1600

C.研究結果

1.水における界面活性剤濃度と溶出性の関係

シロスタゾール錠について, 水の試験液にSDSを0.0~0.5%, PSは0.0~1.0%, TCの場合は0.0~1.5%添加して溶出試験を実施した。界面活性剤濃度毎の溶出曲線を図2に示した。

水の試験液にSDSを添加したところ, 0.3%溶液で溶出率が急激に上昇し, 60分後には溶出率90%を超えてプラトーに達したため, 添加量は0.0~0.5%とした。

一方, PSについては可溶化能が低く, 添加濃度が低いところから濃度に応じて緩やかに溶出率が高くなるが, 1.0%添加の場合でも3時間後の溶出率は60%に留まった。

更にTCの場合は, 添加濃度に応じて溶出率は若干増加するものの, 1.5%添加した溶液による3時間後の溶出率は40%であり, TCの可溶化能は他の界面活性剤に比べ低いことが分った。

2. pH6.8における界面活性剤濃度と溶出性の関係

Mc6.8の試験液に水と同様, SDSは0.0~0.5%, PSは0.0~1.0%, TCの場合は0.0~0.3%添加して溶出試験を実施した。(図3)

Mc6.8の試験液にSDSを添加したところ, 0.1%溶液で溶出率が上昇し, 45分後には溶出率50%, 0.3%添加では45分後に85%を超えてプラトーに達した。一方, PSについては可溶化能が低く, 添加濃度が低いところから濃度に応じて緩やかに溶出率が高くなるが, 1.0%添加の場合でも3時間後の溶出率は56%に留まった。

TCの場合は, 0.3%添加した溶液による3時間後の溶出率は18%と更に低いことが分った。

3. pH4.0における界面活性剤濃度と溶出性の関係

Mc4.0の試験液にSDSを0.0~0.5%, PSは0.0~1.0%, TCの場合は0.0~0.3%添加して溶出試験を実施した。(図4)

SDSを添加したMc4.0溶液では, 0.1%で溶出率

が上昇し、45 分後には溶出率 40%、0.2%添加では 60 分後に 80%を超え、Mc6.8 に比べ若干低濃度でプラトーに達した。一方、PS については可溶化能が低く、添加濃度が低いところから濃度に応じて緩やかに溶出率が高くなるが、1.0%添加の場合でも 3 時間後の溶出率は 56%に留まった。

TC の場合は、0.3%添加した溶液による 3 時間後の溶出率は 18%と低いことが分った。

4. pH1.2 における界面活性剤濃度と溶出性の関係

pH1.2 の試験液に SDS は 0.0~0.5%、PS は 0~1.0%、TC の場合は 0.0~0.3%添加して溶出試験を実施した。(図 5)

SDS を添加した pH1.2 溶液では、0.05%から溶出率の上昇が見られ、0.2%添加で 45 分後には溶出率 40%、0.2%添加では 60 分後に 80%を超え、Mc4.0 に比べ更に低濃度側でプラトーに達した。一方、PS については可溶化能が低く、添加濃度が低いところから濃度に応じて緩やかに溶出率が高くなるが、1.0%添加の場合でも 3 時間後の溶出率は 50%に留まった。

TC の場合は、0.3%添加した溶液による 3 時間後の溶出率は 18%と低いことが分った。

5. 45 分後の溶出率比較

各界面活性剤の添加濃度と 45 分後の溶出率の関係を試験液ごとに図示した。(図 6)。

PS 及び TC の場合、いずれの試験液においても、溶出率は低いものの濃度に応じて徐々に増加する傾向が見られた。

これに対して SDS は、臨界ミセル濃度による溶出率の急激な上昇が観察され、試験液が水の場合、SDS が 0.2%で急激に上昇し、PS との逆転が観察された。Mc6.8 の場合は、0.05%を越えると急激に上昇し、PS との逆転が見られた。また、Mc4.0 においても同様に、SDS の 0.05%以上で溶出率は急激に上昇し、PS による溶出率と逆転した。更に pH1.2 の試験液においては、SDS の 0.05%から溶出率が上昇し

た。

D. 考 察

シロスタゾール錠は局方収載製剤で、溶出性は試験液に 0.3%SDS 水溶液を用い、パドル法により、毎分 50 回転で試験を行っている。医療用医薬品品質情報集⁴⁾によると、シロスタゾール(図 1)は解離基を持たず、製剤の溶出挙動は 0.3%SDS 添加の場合、4 液性による溶出性に差が見られない。今回使用した製剤の結果からも、いずれの界面活性剤においても液性による可溶化能の顕著な差は見られなかった。

一方、SDS、PS 及び TC 毎に、各添加濃度における 45 分後の溶出率をプロットしたところ(図 7)、SDS については、水に比べて他の液性で溶出率が急激に上昇する現象が低濃度側にシフトする現象が観察された。水はイオン強度が低く緩衝作用が弱いいため原薬の性質や製剤の違いが溶出挙動に及ぼす影響が大きいため、また SDS は臨界ミセル濃度が界面活性剤の使用濃度付近にあるため、試験液の塩濃度の違い等により低濃度側にシフトしているためと考えられた。

シロスタゾール錠に関しては、これまでのソファルコン錠及びプラニルカスト水和物錠と異なり、PS、TC 又は SDS 添加時の溶出挙動がいずれの液性においても明らかに異なり、界面活性剤間で可溶化能に大きな差が認められた。しかし、SDS の 0.3%以下を除いて、液性による溶出率の差は小さかった。

今後更に異なる特性の製剤で検討を加えると共に、界面活性剤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

シロスタゾール錠について、水、pH6.8、pH4.0 及び pH1.2 の試験液に、界面活性剤として SDS、PS 又は TC の濃度を変えて添加し、溶出試験を実施した。その結果、いずれの試験液においても溶出率は SDS>>PS>TC の順であり、本製剤に関しては、界面

活性剤によっていずれの試験液においても可溶化能に大きな差が認められた。

一方、試験液の違いによる可溶化能について、PS及びTCにおいては顕著な差は見られなかった。しかし、アニオン性界面活性剤であるSDSの場合は試験液によって臨界ミセル濃度がシフトする傾向が観察され、臨界ミセル濃度付近の濃度においては製剤や試験条件によって溶出挙動が変動する可能性があることが明らかとなった。

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) 厚生労働省医薬食品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等の一部改正について、薬食審査発0229第10号、平成24年2月29日。
- 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) 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, 7-13(2012)

5) 厚生労働省医薬食品局審査管理課, 医療用医薬品品質情報集,平成14年7月版。

G.研究発表

1. 論文発表

1) 岸本清子, 清水雅子, 蓑輪佳子 後発医薬品の品質確保—ジソピラミドカプセル製剤の溶出挙動に関する検討— 東京健安研セ年報 *Ann. Rep. Tokyo Metr. Inst. Pub. Health*, **63**, 125-130, 2012

2. 学会発表

1) 四方田千佳子, 岸本清子, 奥田晴弘 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ついて 日本薬剤学会第27年会(2012.5)

H.知的財産権の出願・登録状況

なし

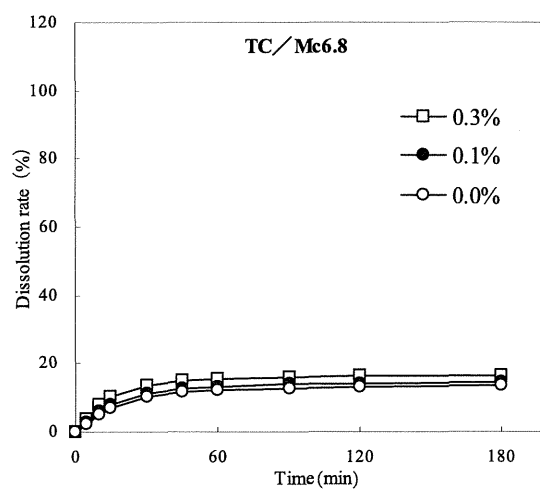
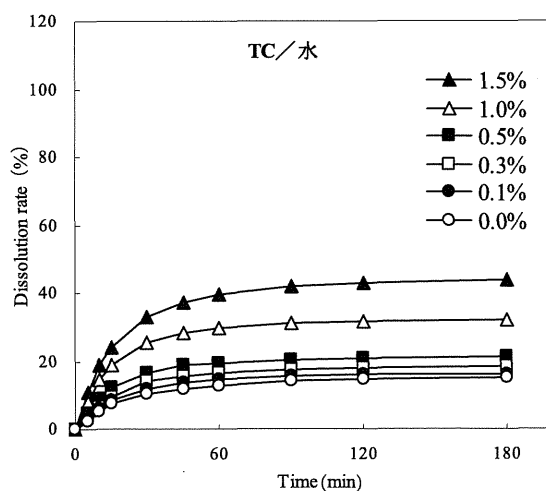
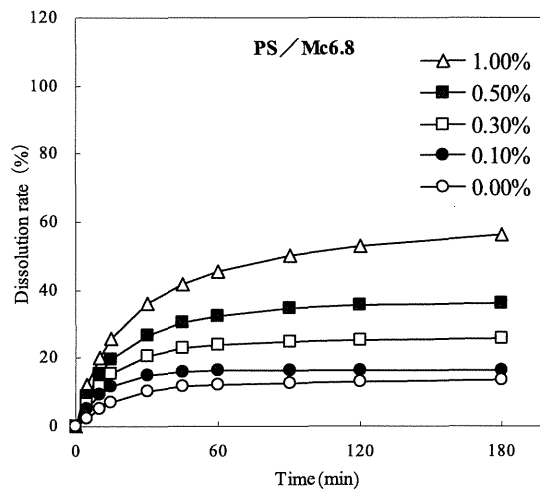
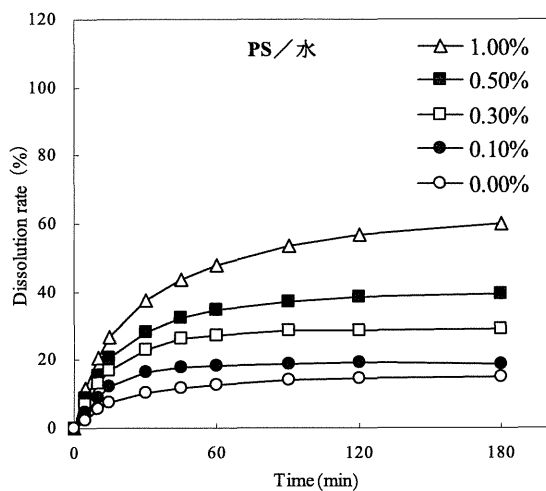
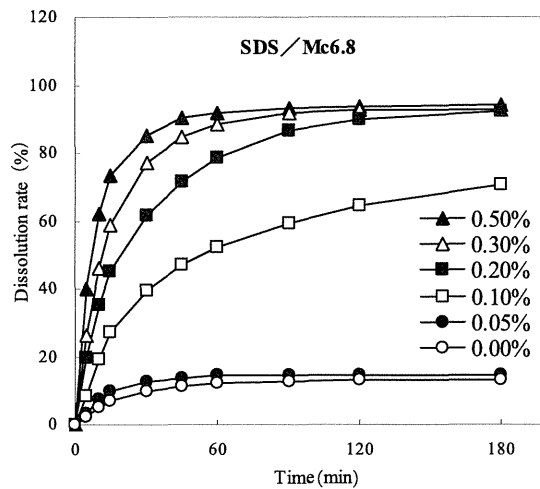
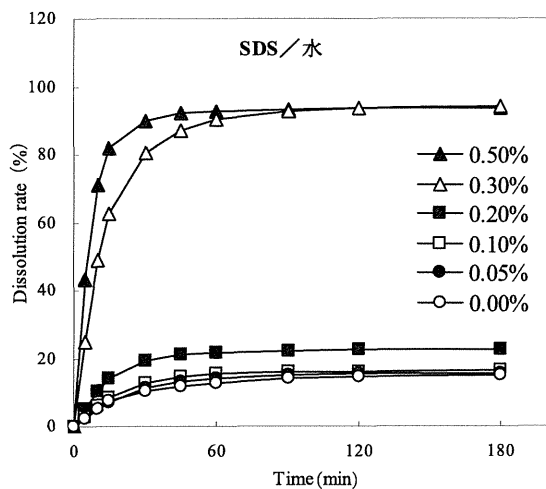


図2 水の試験液におけるシロスタゾールの
溶出性と界面活性剤濃度の関係

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: TC 水溶液による溶出挙動

図3 pH6.8 の試験液におけるシロスタゾールの
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: TC/Mc6.8 溶液による溶出挙動

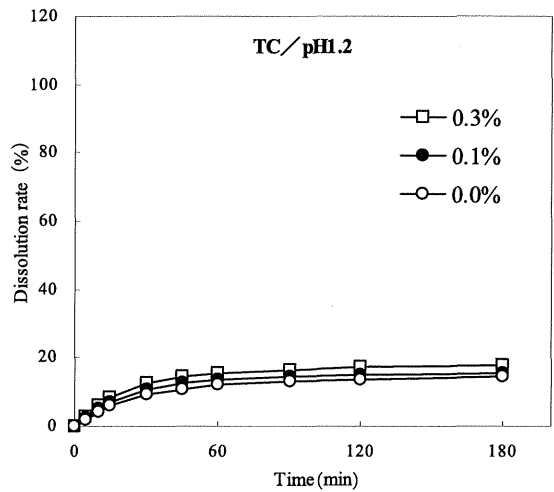
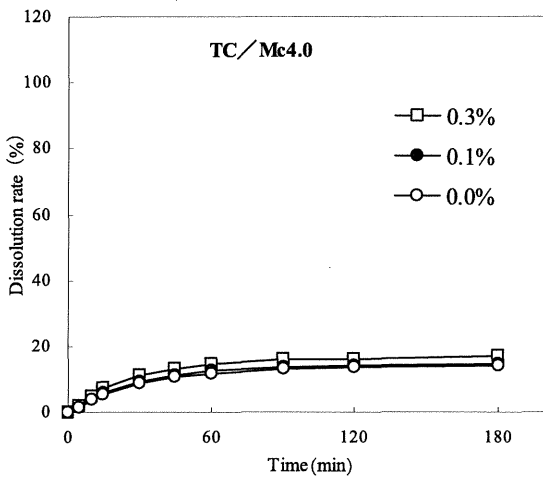
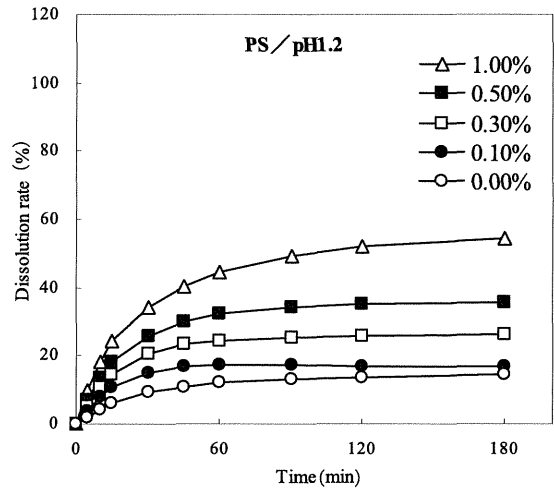
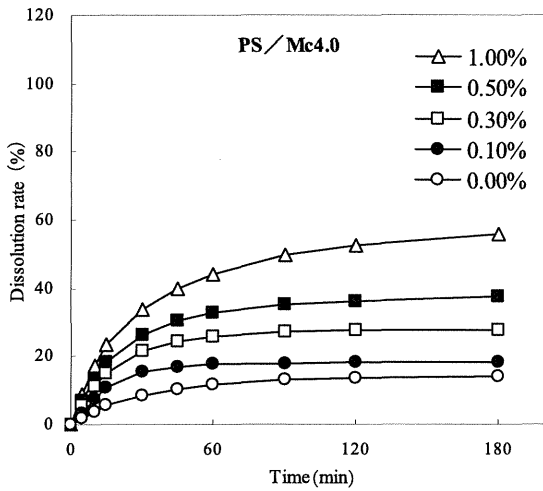
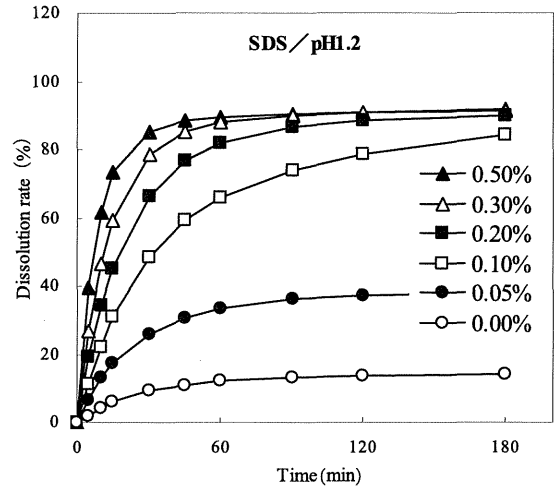
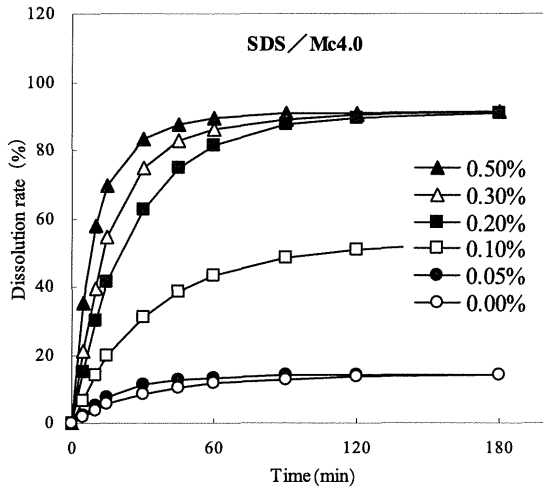


図4 pH4.0の試験液におけるシロスタゾールの溶出性と界面活性剤濃度の関係

図5 pH1.2の試験液におけるシロスタゾールの溶出性と界面活性剤濃度の関係

上: SDS/Mc4.0による溶出挙動
 中: PS/Mc4.0による溶出挙動
 下: TC/Mc4.0による溶出挙動

上: SDS/pH1.2による溶出挙動
 中: PS/pH1.2による溶出挙動
 下: TC/pH1.2による溶出挙動

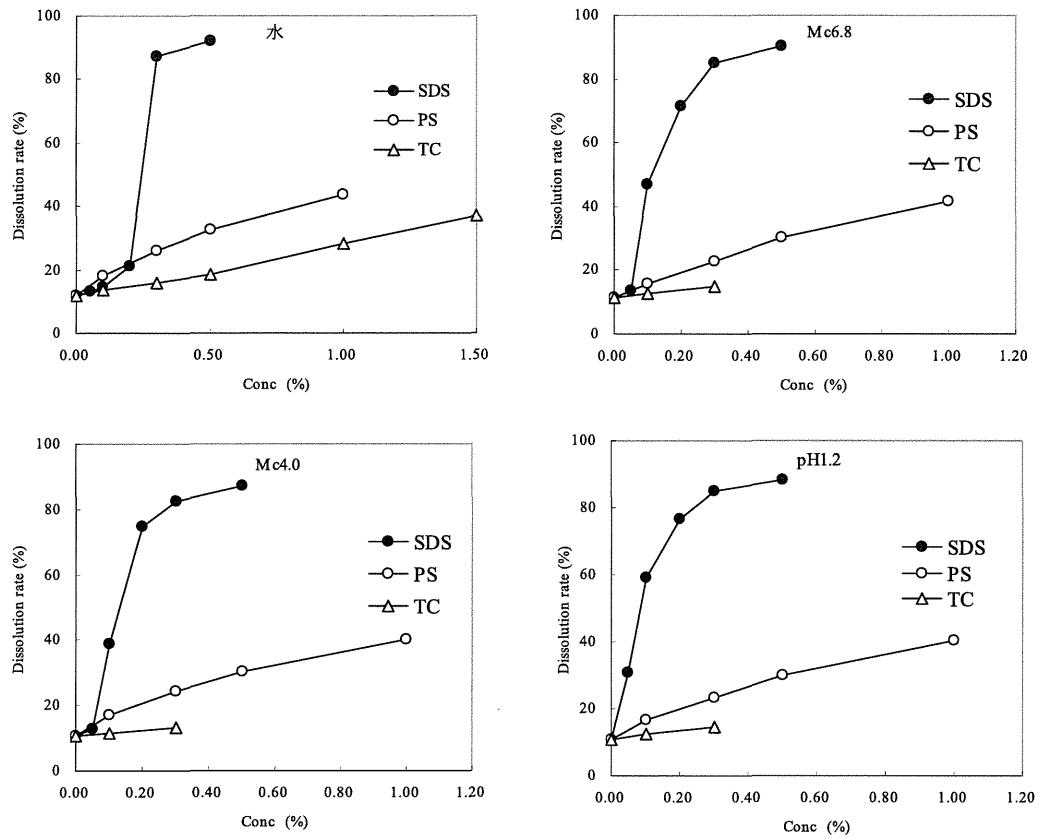


図6 試験液の種類による45分後の溶出率の比較

上左:水 上右:Mc6.8,
下左:Mc4.0 下右:pH1.2

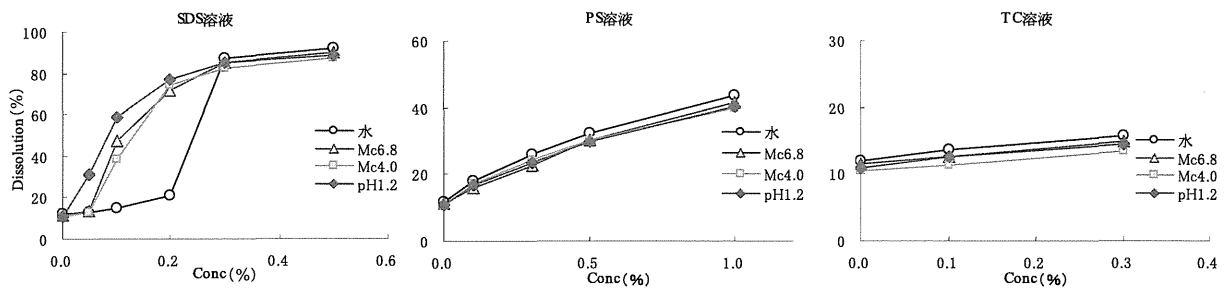


図7 界面活性剤の種類によるシロスタゾールの45分後溶出率

左:SDS, 中央:PS, 右:TC

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ポリソルベート 80 の品質に関する研究

分担研究者 梶村計志 大阪府立公衆衛生研究所

研究協力者 川口正美 大阪府立公衆衛生研究所

（研究要旨） 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ポリソルベート 80（PS80）試薬の理化学的な品質について検討した。市販の PS80 試薬（10 種類）の色調は、無色～だいたい黄色であり、同一ではなかった。5w/v% 水溶液を作製し pH を測定したところ、5.7～6.7 の値を示した。油論試験を行い、酸価、けん価化、ヨウ素価を比較したところ、酸価の値に差が認められた。25w/v%メタノール溶液を調製し、HPLC による分析を行ったところ、全ての PS80 試薬のクロマトグラムから、複数のピークが確認された。市販の PS80 のクロマトグラフのパターンは、概ね 3 種類に分類された。さらに、PS80 試薬の赤外吸収スペクトルを比較したところ、他とは、スペクトルが異なるものが存在した。この様に本研究における検討から、市販の PS80 試薬の品質は大きく異なっていることが明らかとなった。

以上の結果をふまえ、3 種類の理化学的品質が異なる PS80 試薬を使用し、ナブメトン錠、酪酸リボフラビン錠、アリルエストレノール錠について溶出試験を行った。しかし、PS80 試薬の違いによる溶出挙動の差は確認できなかった。

A. 研究目的

非イオン性界面活性剤であるポリソルベート 80（PS80）は、難水溶性製剤の溶出試験に使用される（図 1）¹⁾。工業的には、無水ソルビトールの水酸基の一部をオレイン酸でエステル化した後、酸化エチレンと反応させ合成されるが、乳化剤や可溶化剤の用途で製剤原料としても用いられる²⁾。

分担研究者らはこれまで、溶出試験に使用される界面活性剤であるラウリル硫酸ナトリウム（SDS）試薬の品質が、溶出性に及ぼす影響について検討してきた³⁾⁴⁾。SDS 以外のアルキル硫酸ナトリウムが高い割合で混在する SDS 試薬が市販品の中に見受けられ、溶出試験に適用した場合、溶出率を上昇させることを明らかにした³⁾。また、SDS 試薬を溶解したときの pH の違いが、溶出性に影響を及ぼすことも報告している⁴⁾。

本研究では、SDS と同様、溶出試験に界面活性剤として使用される PS80 試薬の品質に着目した。比較的高濃度の PS80 を使用する溶出試験が設定されているナブメトン酸錠、リボフラビン酪酸錠及びアリルエストレノール錠を対象とし、溶出性に影響を及ぼす PS80 試薬の品質について検討を行った。

B. 研究方法

1. 試験製剤

ナブメトン酸 400mg 錠（レリフェン錠 400mg）、リボフラビン酪酸 40mg 錠（ハイボン錠 40mg）及びアリルエストレノール 25mg 錠（パーセリン錠 25mg）を試験製剤として用いた。

2. PS80 試薬

市販の PS80 試薬（販売メーカー：6 社、10 種類）を試験に使用した。

3. 標準物質

ナブメトン酸は、SIGMA-ALDRICH 社製の分析用試薬を使用した。酪酸リボフラビン（生化学用）及びアシルエストレノール（薬理研究用）は、和光純薬工業株式会社製の試薬を使用した。

4. pH の測定

第 16 改正日本薬局方（日局）に従い、PS80 試薬の 5.0w/v%水溶液について pH を測定した²⁾。pH メーターは、株式会社堀場製作所製の HORIBA F-52 を使用した。

5. 酸価、けん化価及びヨウ素価の測定

日局に従い²⁾、PS80 試薬の油脂試験（酸価、けん化価及びヨウ素価）を行った。

6. HPLC による分析

HPLC による分析は、野村らの方法に従った⁵⁾。PS80 試薬約 1g を秤量し、メタノール 4mL を加えた後、10 分間振り混ぜ、試料溶液とした。HPLC の分析条件は以下の通りである。

装置：株式会社島津製作所製 LC-10AD_{VP} シリウス
検出器：示差屈折率検出器（RID-10A）

移動相：メタノール

カラム：L-column ODS（5 μ m, 4.6mm × 250mm）

カラム温度：40°C

注入量：10 μ L

流速：1.0mL/min

7. フーリエ変換赤外分光光度計による分析

塩化ナトリウム板を用いた液膜法により、各 PS80 試薬の赤外吸収スペクトルを測定した。試薬約 0.1mL を窓板（塩化ナトリウム）にはさみ、日本分光株式会社製のフーリエ変換赤外分光光度計（FT-IR/4100 型）を使用し、測定を行った。得られた PS80 試薬の赤外吸収スペクトルについて、装置付属の構造解析ソフト（KnowItAll、BIO-RAD 社製）を使用し、部分構造の解析を行った。なお、FT-IR の測定条件は、以下の通りである。分解能：4cm⁻¹、積算回数：16 回、測定波長：700cm⁻¹～4000cm⁻¹

8. 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^{6),7),8)}、溶出試験を実施した。溶出試験機は、株式会社大日本精機社製の全自動型

（RT-3std）を使用した。また、溶出挙動を比較する際の試験液採取は、品質再評価で定められた時間⁹⁾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 PS80 試薬の濃度は、以下の通りである。

ナブメトン酸 400mg 錠：3.0w/v%，

リボフラビン酪酸 40mg 錠：1.5w/v%，

アシルエストレノール 25mg 錠：1.0w/v%，

C. 研究結果及び考察

1. PS80 試薬の色調

局外規第三部の溶出試験で使用される PS80 試薬には、日局「ポリソルベート 80」の規格が適用される。その性状の項には、各条品の適否を示すものではないが、色調に関する記述があり、「本品は無色～だいたい黄色の粘稠性のある液」とされている²⁾。

本研究で使用した各 PS80 試薬の色調は全て、性状の項に記載された範囲内であった。しかし、PS80 試薬により色合いは大きく異なっていた（図 2）。PS80-A は、最も「だいたい黄色」に近い色調であり、PS80-F 及び PS80-I は、ほぼ「無色」であった。

2. PS80 試薬の pH

PS80 試薬の 5.0w/v%水溶液を調製し、pH を測定した（図 3）。日局「ポリソルベート 80」の性状の項には、各条品の適否を示すものではないが、5.0w/v%水溶液の pH が規定されている²⁾。PS80 試薬の pH は、5.73～6.73 の範囲であり、日局「ポリソルベート 80」の性状の項の液性（pH5.5～pH7.5）を満たしていた。試薬による pH の差は、ほとんど認められなかったが、PS80-F 及び PS80-I が若干低い値を示した。

分担研究者らは先に、SDS 試薬について、同様

の検討を行っており、試薬により pH が大きく異なること、溶解した時の pH の違いが溶出性に影響を及ぼすことを明らかにしている⁴⁾。

3. 酸価、けん化価及びヨウ素価

日局「ポリソルベート 80」の規格のうち、品質への影響が大きいと考えられる酸価、けん化価及びヨウ素価を測定し、各試薬間で比較した。

各 PS80 試薬の試験結果は全て、日局の規格に適合していた。(表 1)。各 PS80 試薬のけん化価及びヨウ素価は、ほぼ同一の値を示したが、酸価は、試薬により大きく異なっていた。PS80-F の酸価は、日局の規格上限値(2.0 以下)付近であり、PS80-A の約 5 倍の値を示した。

酸価は、油脂中の遊離脂肪酸含量を示しており、通常、精製が進むに従い低下する¹⁰⁾。各 PS80 試薬の色調との関係では、目視的に精製度が高いと考えられる、ほぼ「無色」の PS80-F が最も高い値(1.88)を示し、「だいたい黄色」に近い PS80-A が最も低い値(0.38)を示した。

4. FT-IR による分析

PS80 試薬を FT-IR により分析し、赤外吸収スペクトルを比較した(図 4)。指紋領域(1500 cm^{-1} 以下)の比較では、全ての PS80 試薬のスペクトルが、同一であった。しかし、1500 cm^{-1} ~4000 cm^{-1} の領域では、PS80-A のスペクトルが、他とは異なっていた。PS80-A のスペクトルでは、1640 cm^{-1} 付近の吸収帯がほとんど認められず、3400 cm^{-1} 付近の吸収帯も弱かった。装置付属の構造解析ソフト等による解析結果から、3400 cm^{-1} 付近の幅広い吸収帯は、水素結合した水酸基の伸縮振動によるものであることが推測された¹¹⁾¹²⁾。また、1640 cm^{-1} 付近の吸収帯が、ほとんど認められなかった理由は、試薬間における水分含量の差によるものである可能性がある。すなわち、日局収載の「グリセリン」と「濃グリセリン」の参照赤外吸収スペクトルを比較してみると、水分含量が多いグリセリンのスペクトルでは、1650 cm^{-1} 付近にブ

ードな吸収帯が認められるのに対し、濃グリセリンのスペクトルでは認められない¹³⁾。さらに、水酸基の伸縮振動によるものであることが推測される 3400 cm^{-1} 付近の吸収帯が PS80-A のスペクトルでは弱いことを考慮すると、1640 cm^{-1} 付近の吸収帯は、H-O-H の変角振動によるものであることが示唆される。

この様に、市販の PS80 試薬の赤外吸収スペクトルには、水分含量の差に基づく若干の相違が認められるものの、品質上の問題は確認できなかった。

5. HPLC による分析及び品質の違いが及ぼす溶出挙動への影響

各 PS80 試薬を HPLC により分析し、クロマトグラムを比較した(図 5)。全ての PS80 試薬のクロマトグラムから、複数のピークが確認された。PS80 は、ソルビタンとオレイン酸を反応させて生成するソルビタン脂肪酸エステルにオキシエチレン基を付加重合させて合成される¹⁴⁾。理論的には、ソルビタン 1 分子にオレイン酸が 1 分子とオキシエチレン基が 20 個付加重合した化合物とされているが(図 1)、実際には様々な分子種から構成される複雑な混合物であることが報告されている¹⁵⁾¹⁶⁾。

各 PS80 試薬のクロマトグラムは、ピーク形状等の比較から、3 種類に分類された。PS80-A のクロマトグラムでは、他と比較し、より多くのピークが確認された。また、ピーク形状の比較から、PS80-B, C, D, E 及び J のクロマトグラムが類似しており、PS80-F, G, H 及び I のパターンがほぼ同一であった。

以上の検討結果を踏まえ、理化学的な品質が異なる PS80-A, E, F を使用した溶出試験を実施し、溶出挙動を比較した(図 6)。試験製剤として、ナブメトン酸錠、リボフラビン酪酸錠及びアリルエストレノール錠を対象とした。これらの製剤は全て、局外規第三部に溶出試験が収載さ

れており、比較的高濃度のPS80 試薬を使用する製剤である。

PS80-A, E, F を用いた場合の溶出挙動は類似しており、3種類の試験製剤とも、使用する試薬による溶出性の差は確認できなかった。この様に、本報告書において確認されたPS80 試薬の品質の相違は、溶出挙動に影響を及ぼすものではなかった。

D. 参考文献

- 1) 近澤正敏, 田嶋和夫: 界面化学, 東京, 丸善, 2010, p. 163.
- 2) 第16改正日本薬局方解説書, 東京, 廣川書店, 2011, P.C-4645-4647, B-84-91, B-339.
- 3) 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(9), 626-632(2011).
- 4) 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, 43(2), 194-199(2012).
- 5) 野村千枝, 北川幹也, 吉田政晴, 田中之雄: 食衛誌, 48(3), 64-68(2007).
- 6) 厚生労働省医薬食品局審査管理課, 医療用医薬品品質情報集, 平成14年7月版, P. 144-146.
- 7) 厚生労働省医薬食品局審査管理課, 医療用医薬品品質情報集, 平成15年10月版, P. 223.
- 8) 厚生労働省医薬食品局審査管理課, 医療用医薬品品質情報集, 平成15年10月版, P. 168.
- 9) 厚生省医薬安全局審査管理課長: 医療用医薬品の品質に係る再評価の予試験について, 医薬審第599号, 平成10年7月15日.
- 10) 第16改正日本薬局方解説書, 東京, 廣川書店, 2011, P.B-84-91.
- 11) ビギナーズ有機構造解析, 川崎潤, 京都, 化学同人, 2008.
- 12) はじめての有機スペクトル解析-IR, NMR, MS データを読む-の併用-, 宇野英満, 築部浩,

東京, 丸善, 2006.

- 13) 第16改正日本薬局方解説書, 東京, 廣川書店, 2011, P.E-216.
- 14) 建部千絵, 河崎裕美, 杉本直樹, 佐藤恭子, 棚元憲一: 日本食品化学学会誌, 15(3), 129-134, 2008.
- 15) Frison-Norrie, S., Sporns, P.: J. Agric. Food Chem., 49, 3335-3340(2001).
- 16) Dang, H. V., Gray, A. I., Watson, D., Bates, C. D., Scholes, P., and Eccleston, G. M.: J. Pharma. Biomed. Anal., 40, 1155-1165(2006).

E. 研究発表

1. 論文発表

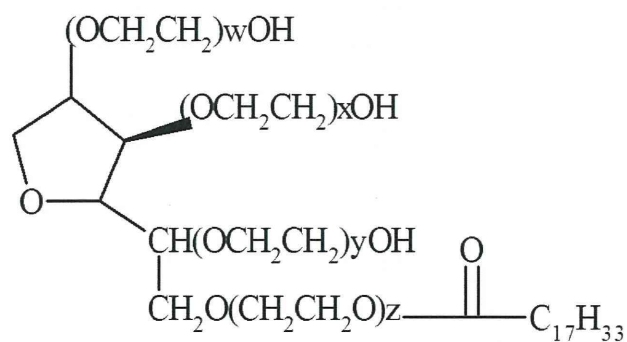
- 1) 梶村計志, 川口正美, 四方田千佳子: 難水溶性製剤の溶出試験に界面活性剤として使用されるポリソルベート80の品質に関する研究, 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 43(7), 650-655(2012).

2. 学会発表

なし

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし



$$W+X+Y+Z=\text{approx.}20$$

図1 ポリソルベート80の構造式

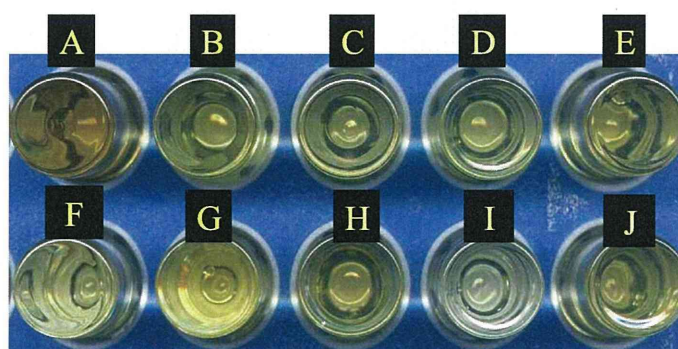


図2 ポリソルベート80試薬の性状

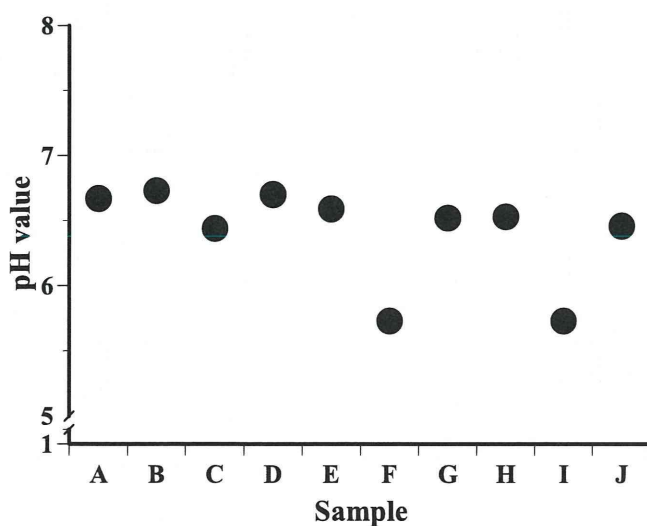


図3 PS80 試薬を用いて調製した水溶液の pH