

比を比較した。各製剤に対して高い溶出率をもたらす SDS 試薬には、STS (C₁₄) 及び SHS (C₁₆) が高い割合で混在していた。STS (C₁₄) の溶出挙動に及ぼす影響について検討したところ、SDS (C₁₂) と比較し、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対して、より高い溶出率をもたらすことが明らかとなった。

STS (C₁₄) が SDS と比較し、より高い溶出率をもたらした原因は、臨界ミセル濃度 (cmc) の違いに起因している可能性がある。界面活性剤の水溶液は、cmc を境に、物理的性質が急激に変化する。そのうち可溶化能は、cmc までは略一定であるが、cmc を越えると濃度の変化に伴い大きく増大する^{9,10}。SDS (C₁₂) 及び STS (C₁₄) の cmc は、それぞれ、8.1 mM/L (0.23 w/v%) 及び 2.1 mM/L (0.07 w/v%) である¹⁰。SDS より cmc が小さい STS を同じ濃度で使用することにより、可溶化能に変化が生じ、難水溶性の医薬品に対し、高い溶出率をもたらした可能性がある。

界面活性剤は単独系で使用するより混合した方が、それぞれの値より cmc が低下し、界面活性が増加することが知られている¹¹。STS (C₁₄) が高い割合で混在していた SDS-B が高い溶出率をもたらした原因も、cmc の低下に起因していることが推測される。また、SDS のようなイオン型界面活性剤は、イオン強度の増大により cmc が低下し、ミセル会合数が増加する^{10,12}。本研究における検討では、SDS-B と他の SDS の間にイオン性不純物含量の明確な差は認められなかった。しかし、今回測定した以外の不純物の存在によりイオン強度が増大し、cmc に変化が生じ、高い溶出率をもたらした可能性もある。

溶出試験の結果に差違が認められた 3 種類の SDS 試薬について、日局 SDS への適合性を試験したところ、試験結果に若干の差が認められた。しかし各試験項目とも、規格値を大きく下回っており、溶出挙動に及ぼす影響との強い関連性を示唆することはできなかった。また、総アルコール量は定量試験に相当するものであるが、塩酸で加水分解した後、液々分配を行い、分解物全体の質量をアルコール量として算出するため、SDS (C₁₂) 以外のアルキル硫酸ナトリウムが混在していても、同様に計測されてしまう。

医療用医薬品品質情報集の試験で使用される SDS 試薬には、局方の医薬品各条の規格が適用される。市場の SDS 試薬は、局方品として流通している訳ではないが、本稿における検討から、現在の局方規格に適合していた。現行の局方試験だけでは、溶出性に影響を及ぼす SDS の品質を見極めることは難しい。新たな試験法の設定を

含めた検討が必要である。

現在、多くの試薬メーカーから様々な規格の SDS 試薬が販売されている。市販の SDS 試薬について、混在する可能性があるアルキル硫酸ナトリウムの分析を行ったところ、全ての SDS 試薬から STS (C₁₄) が 0.1~26.3 % の割合で検出された。SDS 試薬に高い割合で混在する STS (C₁₄) は、溶出挙動に影響を及ぼす可能性がある。

アルキル硫酸ナトリウムの組成比を確認した多くの SDS 試薬では、STS (C₁₄) の組成比が 1% 以下であった。そこで、微量の STS (C₁₄) が溶出挙動に及ぼす影響について検討した。その結果、1% 程度の混在比であれば、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の溶出挙動には、ほとんど影響を及ぼさないことが確認された。溶出試験で使用する SDS 試薬の品質に関して、混在するアルキル硫酸ナトリウムの組成比を見極めることが重要である。

結 論

アネトールトリチオン錠、イプリフラボン錠及び酢酸コルチゾン錠について 3 種類の SDS 試薬を用い、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ることが確認された。高い溶出率をもたらす SDS 試薬には、STS (C₁₄) が約 25% 程度含まれていた。SDS 試薬の代わりに STS 試薬を使用し溶出試験を行ったところ、より高い溶出率をもたらすことが明らかとなった。

市販の SDS 試薬に混在する他のアルキル硫酸ナトリウムを分析したところ、全ての SDS から STS (C₁₄) が検出された。しかし、大多数の SDS 試薬では、その組成比が 1% 以下であった。SDS 試薬に混在する 1% 以下の STS (C₁₄) は、溶出挙動にほとんど影響を及ぼさないことが確認された。

以上の結果から、SDS 試薬に混在する STS (C₁₄) は 1% 程度であれば、ほとんど影響を及ぼさないが、高い割合で混在した場合、溶出性に影響を及ぼすことが明らかとなった。

謝 辞

本研究は平成 22 年度厚生労働科学研究「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」の助成を受けたものである。

文 献

- 1) 第 15 改正日本薬局方解説書、東京、廣川書店、2006、P.B-587.

- 2) 厚生省医薬安全局審査管理課長：医療用医薬品の品質に係る再評価の予試験について，医薬審第599号，平成10年7月15日。
- 3) 小和田和宏，栗田浩幸，上村慎子，黒見公一，上野千恵，水野くみ子，藤原厚子，山本政利：静岡県環境衛生科学研究所報告，49，47-50（2006）。
- 4) 第15改正日本薬局方解説書，東京，廣川書店，2006，P.C-4552-4555。
- 5) 厚生労働省医薬食品局審査管理課，医療用医薬品品質情報集，平成14年3月版，P.132-133。
- 6) 厚生労働省医薬食品局審査管理課，医療用医薬品品質情報集，平成15年10月版，P.166。
- 7) 厚生労働省医薬食品局審査管理課，医療用医薬品品質情報集，平成15年12月版，P.136。
- 8) Nakamura, K., Morikawa, Y., Matsumoto, I.: *J. Am. Oil. Chem. Soc.*, 58, 72-77 (1981).
- 9) 日本産業洗浄協議会：わかりやすい界面活性剤，東京，工業調査会，2003，p.28-32。
- 10) 竹内 節：界面活性剤，東京，米田出版，2010，p.30-39。
- 11) 近澤正敏，田嶋和夫：界面化学，東京，丸善，2010，p.168-169。
- 12) 堀内照夫：最新界面活性剤の選び方，使い方，東京，技術情報協会，2008，p.146-147。

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検討

川口 正美^{*1,*}, 梶村 計志^{*1}, 田口 修三^{*1}

(受付:平成23年3月30日, 受理:平成23年7月29日)

Changes in Dissolution Behavior of Tranexamic Acid Capsules during Storage

Masami KAWAGUCHI^{*1,*}, Keiji KAJIMURA^{*1} and Shuzo TAGUCHI^{*1}

Summary

Many drugs have recently been recalled from the market because of decreased dissolution rate after storage. So, we investigated changes in the dissolution behavior of tranexamic acid (TA) capsules during storage.

Four products from different manufacturers were stored under 3 conditions (25°C/60% RH, 40°C/75% RH, and 25°C/75% RH), and then dissolution tests were performed after 0, 1, 4, 6 and 10 months using 4 types of dissolution medium (pH 1.2, pH 4.0, pH 6.8, and water). Dissolution curves were prepared according to the Orange Book (Japanese Edition). After storage at 25°C/60% RH and 25°C/75% RH, no time-course changes in dissolution behavior were observed in any of the products. After storage at 40°C/75% RH, marked changes were observed in three out of four products, and the most marked differences among the products were observed when water was used as the dissolution medium.

We then investigated the cause of these variations. When dissolution tests were performed using the capsule contents only, there was no delay or reduction of dissolution after storage. Thus, dissolution tests under the same conditions were performed, using samples prepared by exchanging the capsular shells and contents with those of other products.

Based on these study results, we concluded that the changes in the dissolution behavior of TA capsules after storage at 40°C/75% RH were mainly due to alterations in the capsular film.

Key words

Tranexamic Acid, Hard capsule, Dissolution behavior, Time-course changes, Storage test, Accelerated storage condition, Quality reevaluation, Japan edition of Orange Book

緒言

近年、医薬品の回収事例では、製品出荷後の保存検体等について、溶出率が低下する事例が増加している¹⁾。これは、特に後発医薬品に限ったものではなく、先発品にも多く認められるように、溶出性は変化が生じやすい項目である。

特に、医薬品の品質を一定の水準に保つことを目的とした医療用内服固形製剤の品質再評価事業(平成10~19年度)で、新たに溶出試験が設定された製剤には、溶出

性に基づく品質が一定期間安定であることは十分に確認されないまま試験法及び溶出規格が設定されている。

著者らは、先にトコフェロールニコチン酸エステルを有効成分とする硬カプセル剤について、保存試験を行い、経時的に、また、保存条件により、溶出挙動に変化が認められることを報告した²⁾。その原因は、カプセル皮膜、内容物、又はその両方であることが推測された。硬カプセル製剤であれば同様の原因で、溶出挙動に変化が生じる可能性が考えられる。そこで、過去に溶出性が問題で回収事例が認められた、トラネキサム酸(TA)カプセ

*1 大阪府立公衆衛生研究所 大阪市東成区中道1-3-69 (〒537-0025)

Osaka Prefectural Institute of Public Health, 1-3-69 Nakamichi, Higashinari-ku, Osaka 537-0025, Japan

* 責任著者 Corresponding author

ルについて検討を行った。

実験方法

1. 検体

市場に流通している TA を有効成分とする製造メーカーの異なる硬カプセル剤 (含量 250 mg) 4 製剤を用いた。製造後 5 箇月 (製品 A)、2 年 7 箇月 (製品 B)、4 箇月 (製品 C)、6 箇月 (製品 D) に各製剤を購入し、2 箇月間室温で保管後、保存試験を開始した。使用期限はそれぞれ、2013 年 10 月 (製品 A)、2011 年 8 月 (製品 B)、2013 年 11 月 (製品 C)、2013 年 9 月 (製品 D) であり、有効期間はすべて 5 年であった。なお、先に示した製造後の経過月数は使用期限と有効期間から逆算したものである。

2. 検体の保存条件

塩化ナトリウム又は臭化ナトリウムの飽和溶液を入れたデシケーター中に、PTP 包装状態の製剤を入れ恒温槽で保存した^{3,4)}。保存条件は安定性試験ガイドライン等^{5,6)}を参考に、25°C、60%RH の長期保存条件、40°C、75%RH の加速条件、湿度の評価用の中間条件として、25°C、75%RH の 3 条件を設定した。

3. 試薬

Tranexamic acid (純度 99.90%) ; LKT Laboratory 製、日本薬局方トラネキサム酸標準品 ; 日本公定書協会製、ラウリル硫酸ナトリウム ; 和光純薬工業製 (試薬 1 級)、その他の試薬は和光純薬工業製 (試薬特級) を用いた。

4. 溶出試験条件

保存検体について、0、1、4、6、10 箇月後に溶出試験を実施した。溶出試験機は、全自動溶出試験機 (RT-std3 大日本精機製) を用いた。溶出試験の条件は、日本薬局方 (日局) に従い、パドル法、毎分 50 回転で、シンカーを使用した⁷⁾。なお、この条件は、日本薬局方外医薬品規格第三部⁸⁾と同一である。試験液は、医療用医薬品品質情報集⁹⁾ (オレンジブック) に溶出曲線が収載されている 4 種類の試験液 (pH 1.2 : 溶出試験第 1 液⁷⁾、pH 4.0 : pH 4.0 の 0.05 mol/L 酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液⁷⁾、pH 6.8 : 薄めたリン酸緩衝液、水) を用いた。また、溶出試験開始 5、10、15、30、45、60 分後の試験液を採取し、オレンジブックの方法で溶出率を算出し、溶出曲線を作成した。なお、溶出率はすべて n=6 の平均値とした。

5. HPLC 測定条件⁷⁾

高速液体クロマトグラフは、島津製作所製 Prominence

シリーズ又は CLASS-VP シリーズを用いた。測定波長 ; 220 nm, カラム ; Inertsil ODS-2 (4.6×150 mm, 5 μm), カラム温度 ; 30°C, 移動相 ; A 液 : 無水リン酸二水素ナトリウム 11.0 g を水 500 mL に溶かし、トリエチルアミン 10 mL 及びラウリル硫酸ナトリウム 1.4 g を加え、リン酸で pH 2.5 に調整後、水を加えて 600 mL とした液。B 液 : メタノール。C 液 : 水。A 液/B 液/C 液 (50 : 35 : 15), 流速 ; 1.5 mL/min, 注入量 ; 10 μL で測定を行った。

6. 空カプセルの評価

25°C、60%RH、及び 40°C、75%RH の条件下で 10 箇月保存した試料について、それぞれ内容物を取り出した空カプセルを用いて、以下の試験を行った。

カプセル剤用のカプセルは日局中の医薬品各条に「カプセル」として規定されており、これに適合する必要がある。この中で、純度試験として、において、溶状及び液性が規定されていることから、溶状及び液性につき、「カプセル」の純度試験⁷⁾を参照し、以下の試験を行った。水 50 mL を正確に 100 mL の三角フラスコに入れ、水浴中で 37°C に維持し、内容物を取り出した空カプセルを入れ、時々振り混ぜながら、カプセルが溶解する時間を測定した。カプセルを入れた 10 分後に 37°C の水浴から取り出し、20°C になるまで別の水浴に入れ、pH を測定した。なお、溶解時間及び pH は、n=5 の平均値とした。

実験結果及び考察

1. 保存条件が溶出挙動に及ぼす影響

各製剤を 3 種類の保存条件で 10 箇月間保存し、4 種類の試験液を用いて溶出挙動を比較した (Fig. 1)。

25°C60%RH 及び 25°C75%RH の保存条件下では、全ての試験液、製品において、10 箇月間の保存による経時的な変化はほとんど認められなかった (Fig. 1-(b), (c), (f), (g), (j), (k), (n), (o))。

しかし、加速条件では、製品により差が認められた (Fig. 1-(d), (h), (l), (p))。製品 A では、すべての試験液において、経時的な変化はほとんど認められなかった。また、製品 B、D は、全ての試験液において、溶出の遅延が若干認められるものの、30 分後には、95%以上の溶出率を示した。

一方、製品 C は、加速試験条件では、全ての試験液において、溶出挙動の経時的な変化が認められた。特に試験液に水を用いたときの変化が最も大きく (Fig. 1-(d)), 保存後 4 箇月で溶出挙動に遅延が認められた (Fig. 2-(c))。保存 6 箇月後には、60 分後においても、溶出率が 80%

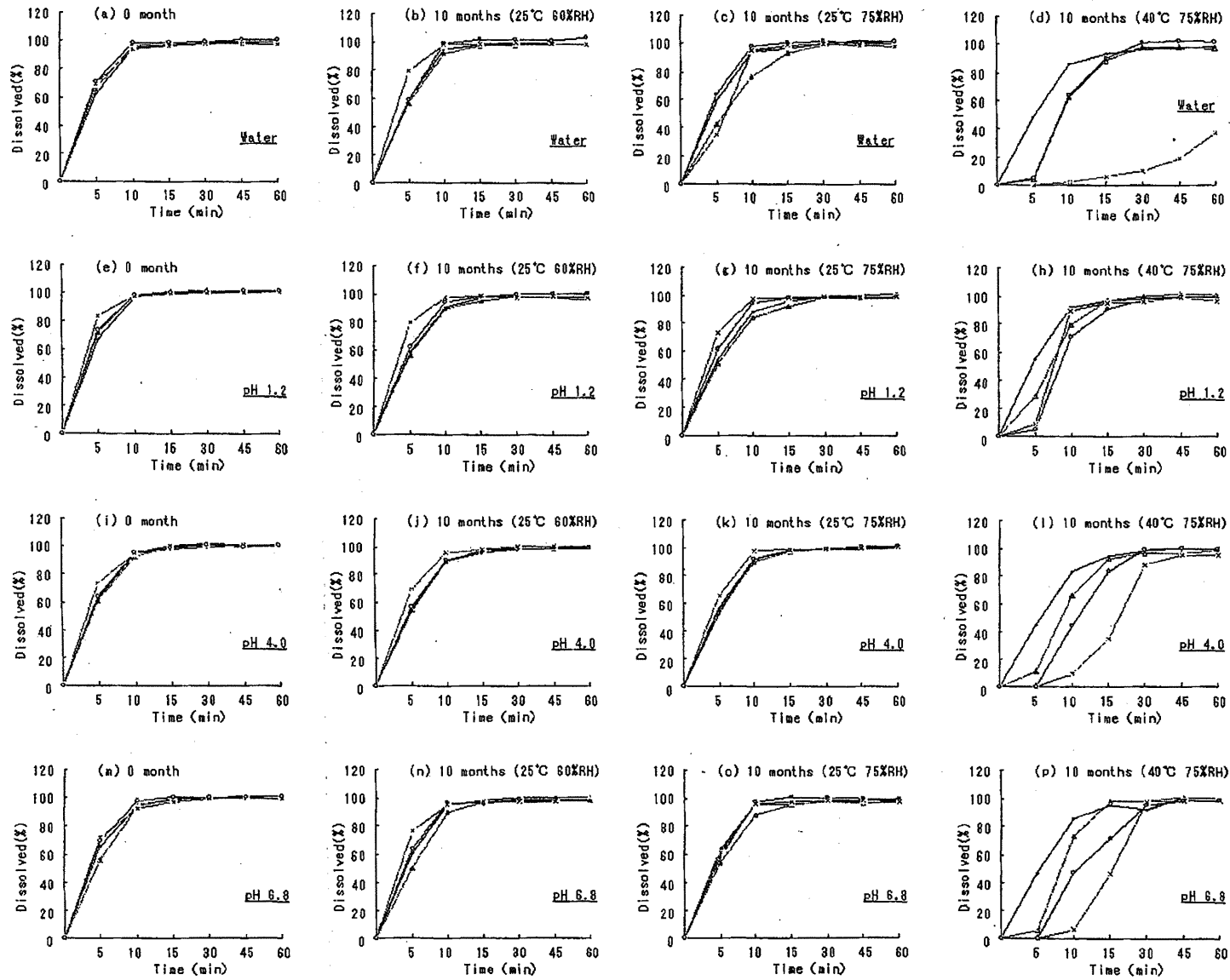


Fig. 1 Change of Dissolution Behavior with the Storage Conditions of 25°C/60%RH, 25°C/75%RH and 40°C/75%RH, Examined by 4 Different Test Solutions (Water, pH 1.2, pH 4.0 and pH 6.8)
 Product A (◆), Product B (△), Product C (×), Product D (○)

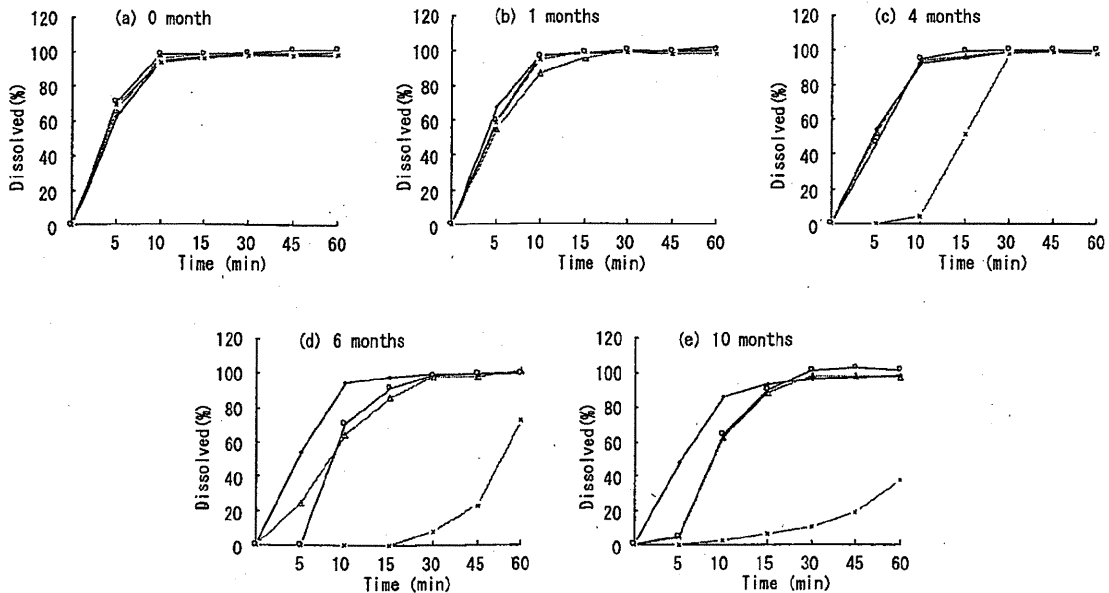


Fig. 2 Change of Dissolution Behavior with the Storage Conditions of 40°C/75%RH, Examined by Water Product A (◆), Product B (△), Product C (×), Product D (○)

程度であり、また、ベッセル間の溶出率にも大きなバラツキがあった (Fig. 2-(d)). 他の試験液では、このような溶出挙動の相違は認められておらず、日局の試験液である水は、製品の変化を適切に確認することができる試験液であった。なお、試験液に水を用いた場合の 25°C 75%RH の保存条件においても、溶出率の遅延が認められている (Fig. 1-(c)). 保存 6 箇月の時点で溶出率の遅延が既に認められており、温度だけではなく、湿度の影響も受けていることが示唆された。

2. カプセル内容物の溶出性

溶出率の低下や溶出挙動の遅延は、有効成分の含量低下等の変化に基づく場合がある。そこで、加速条件で 10 箇月間保存したカプセルを開封し、内容物の溶出挙動を比較した結果、製品による差は認められなかった (Fig. 3)。内容物は投入と同時に試験液中に拡散しており、有効成分の溶出が即時に行われていることが示された。このことから、加速試験条件の保存であっても、有効成分は即時に試験液に溶解すること、含量は低下していないことが示され、有効成分の変化に基づく溶出率の低下ではないことが示された。

また、製品 C は、25°C60%RH で保存した製剤の内容物も同様に試験を行ない、保存条件の違いによる内容物の溶出挙動の差を比較したが、保存条件による差は認められなかった。

3. 保存カプセルの純度試験

検討に用いた全ての製剤は、ゼラチンを原料とする硬

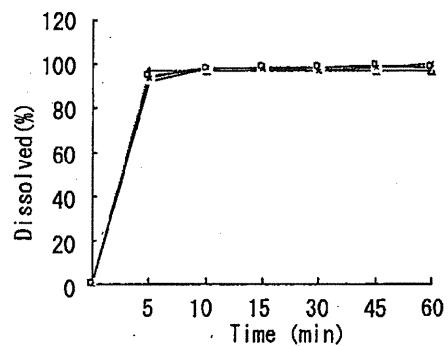


Fig. 3 Dissolution Behavior of Capsule Contents after Storage for 10 Months at 40°C/75%RH

A (◆), B (△), C (×), D (○)

カプセル剤である。ゼラチンカプセルの場合、主原料であるゼラチンは変性しやすく、変性した場合にはカプセルの溶解性が変化する¹⁰⁻¹²⁾。

そこで、カプセルの変性の可能性を考慮し、医薬品各条の「カプセル」に規定されている純度試験に準じた試験を実施した⁷⁾。この結果、保存条件による差は特に認められず、日局「カプセル」に不適合となる変化は認められなかった (Table 1)。

4. 溶出挙動へ影響を与えたのはカプセル皮膜か、内容物か

4.1 製品 B 及び D の場合

新医薬品の申請時に必要な安定性試験において、「加速条件における溶出が判定基準を満たさない場合でも、その原因が架橋によることが明らかである場合には、安

Table 1 Dissolution Time and Solution pH: The result was tested according to the provisions given in the section of "purity" in the Capsules monographs specified in the Japanese Pharmacopoeia.

Capsule Shell	Storage Condition	Dissolution Time (min)	pH
Product A	25°C60%RH	5	5.72
	40°C75%RH	5	5.67
Product B	25°C60%RH	4	5.09
	40°C75%RH	5	5.07
Product C	25°C60%RH	4	5.72
	40°C75%RH	5	5.60
Product D	25°C60%RH	6	5.70
	40°C75%RH	8	5.66

定性試験ガイドラインで示された中間的条件 (30°C65% RH) での評価が必要になる『明確な品質の変化』とは見なされない」とされている^{5,19)}。今回の検討は、紙箱から取り出した製品を用いており、承認審査時に要求される市販状態の製品を評価したものとは異なっているものの、溶出挙動の変化がカプセルに由来するか否かを確認することは重要である。

カプセル内容物を用いた検討により、有効成分に変化が認められない (Fig. 3)。そこで、25°C60%RH で10箇月保存した製品 A と、40°C75%RH で10箇月保存した製品 B、C、D を用い、以下の試験を行った。各製品の内容物を入れ替えた試料 (各製剤を開封し、その内容物を取り出し、空にした製剤のカプセルに取り出した内容物を再充てんした試料) を作成し、試験液を水とし、溶出試験を実施した。

その結果、製品 A の内容物でも、カプセルが他製品の場合、溶出に明らかなラグ時間が生じた (Fig. 4)。また、製品 A のカプセルに製品 B 又は D の内容物を充てんした場合、保存試験開始時の製品と同様の溶出挙動を示し、溶出率の遅延は改善された (Fig. 5)。このことか

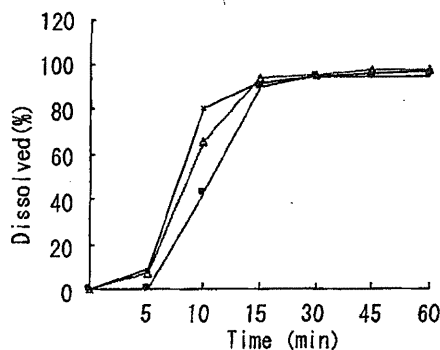


Fig. 4 Comparison of Dissolution Behavior of Content A in Different Capsule Shells after Storage for 10 Months at 40°C/75%RH
Capsule Shell B (△), Capsule Shell C (×), Capsule Shell D (●)

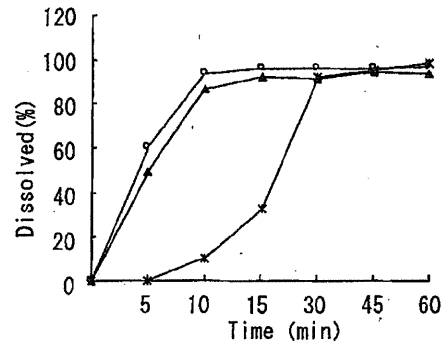


Fig. 5 Comparison of Dissolution Behavior of Capsule Shell A with Different Contents after Storage for 10 Months at 40°C/75%RH
Content B (▲), Content C (*), Content D (○)

ら、製品 B 及び D で認められた溶出率の遅延は、カプセル皮膜が原因であると考えられた。一方、製品 A のカプセルに、製品 C の内容物を充てんした場合、溶出率の低下は改善されるものの、保存開始時の製品と比べて大幅な遅延が認められた (Fig. 5)。

TA は、今回検討した 4 種類の試験液に溶けやすく⁹⁾、試薬の TA を製品 A のカプセルに充てんした場合、製品 A と同様に速やかに溶出した (Fig. 6)。また、各製品の内容物を用いた場合も、溶出率は試験開始 5 分後で 90% 以上を示した (Fig. 3)。これらのことから内容物に含まれる TA 以外の添加物は、TA の溶解性に直接影響を与えることはない、と推定された。

4.2 製品 C の場合

次に、加速条件で保存した製品 C のカプセル皮膜に試薬の TA を充填し、溶出挙動を確認したところ、保存前の製剤の溶出挙動と比較して遅延が認められた (Fig. 7)。この結果からは、製品 C のカプセル皮膜に変化が認められることが示されたものの、保存後の製剤で認められた溶出率の遅延を説明するには不十分であった。

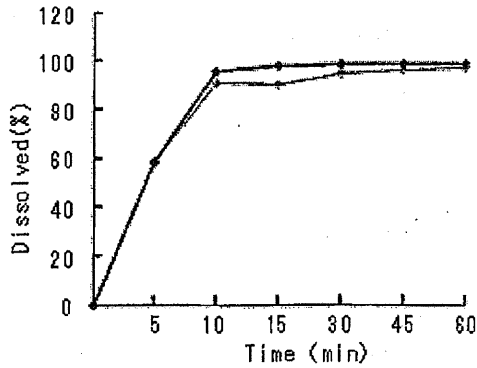


Fig. 6 Dissolution Behavior of Capsule Shell A after Storage for 10 Months at 25°C/60%RH
Content A (◆); after storage for 10 months at 25°C/60%RH, TA (◇)

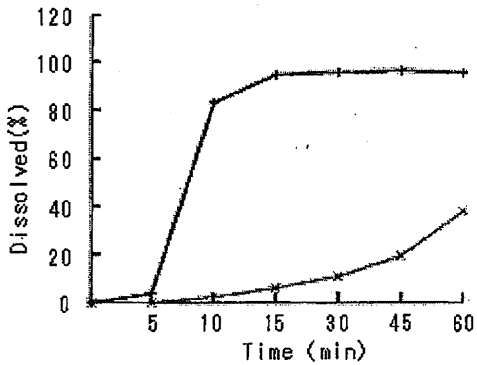


Fig. 7 Comparison of Dissolution Behavior of Capsule Shell C after Storage for 10 Months at 40°C/75%RH
Content C (×); after storage for 10 months at 40°C/75%RH, TA (+)

製剤中の有効成分には変化が認められていない (Fig. 3) ことを併せて考慮すると、製品Cは、カプセル皮膜とともに、有効成分以外の内容物についても変化が生じていると考えられた。

製品A, B, Dの崩壊過程を観察すると、製品投入後、カプセルの一部分がくぼむように変形したり、穴が開いたり、短径側で二つに割れる等の過程を経てカプセルが崩壊した。空カプセルを用いて同様の条件で溶出試験を行い崩壊の様子を目視で観察した際にも、製品Cの空カプセルを含め、全ての空カプセルでこのような崩壊過程が観察され、崩壊開始時間や崩壊終了時間は、目視では大きな差は認められなかった。

一方、製品Cでは、シンカーが投入された後、カプセルが膨潤し、シンカー内に広がった後、一部分に穴が開き、崩壊が起こるが、加速試験条件の保存検体の試験終了時には、変形したカプセルが残留しており、カプセルの外側はゲル状になっていた。また、製品Cの溶出試験液では、顕著な濁りが認められ、溶出試験終了まで、濁りがなくなることはなかった。これは、製剤の添加物

に水を加えると、膨潤して懸濁液となるカルメロースカルシウム (CMC-Ca) が使用されていることに由来すると考えられる¹⁴⁾。

保存による影響がない製品Cのカプセル皮膜は、外側から試験液に溶けることで崩壊するとともに、添加物のCMC-Caが膨潤することにより、皮膜の内側からも物理的に崩壊すると推測される。CMC-Caを崩壊剤として使用した場合、特に湿度の影響によって、溶出速度が著しく遅れることがフェニトイン錠で報告されている¹⁵⁾。このことから、CMC-Caは湿度によって影響を受けていることが推測された。

以上のことから、製品Cの溶出率の低下には、1) 温度の影響を受けたカプセル皮膜は、外側からの崩壊が不十分であったこと、2) 湿度の影響を受けたCMC-Caを含む内容物が、内側からカプセル皮膜を物理的に崩壊させることが不十分であったこと、3) 崩壊した皮膜と内容物がゲル状の膜を形成したため、トラネキサム酸が試験液と接触することが妨げられたこと、の複数の原因が寄与していたことが推測された。

医薬品の有効期限は、適切な管理を行った状態の未開封の製品に対して定められたものであるが、患者が常に未開封の製品を入手することは不可能であり、更に薬局や患者の保管状態が万全であるとは限らない。このことから、保存の問題で生じる溶出性の問題を回避するためには、加速試験の結果や、保存ロットの結果の比較を十分に評価するなどのデータを示し、カプセル剤の高温保存を極力回避しなければならないことを、製造業者以外にも広く知らしめる必要がある。また、製剤の問題で生じる溶出性の問題を回避するためには、たとえばゼラチンカプセルで認められる不溶化の原因となる可能性のある添加物や、保存による影響を受ける添加物を極力使用しないような製剤設計を検討することが望ましいと考えられる。

結 論

各種条件による保存試験の結果、加速試験条件においては、溶出挙動に経時的な変化が認められた製剤があった。その原因は、有効成分の含量低下等に由来するものではなく、カプセル皮膜が、カプセル及び内容物の変化に起因することが示された。

今後は、保存による溶出性の変化を、加速試験や保存ロットを用いることで詳細に評価し、そのデータを蓄積する必要があると考えられる。

文 献

- 1) 医薬品医療機器情報提供ホームページ. <http://www.info.pmda.go.jp/kaisyuu/menu.html> accessed 2011/3/25.
- 2) 川口正美, 梶村計志, 田口修三: 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 42(2), 149-155 (2011).
- 3) H. Nyqvist: *Int. J. Pharm. Tech & Prod. Mfr*, 4(2), 47-48 (1983).
- 4) JIS A 1475: 建築材料の平衡含水率測定方法, 2004.
- 5) 厚生労働省医薬局審査課長: 安定性試験ガイドラインの改定について, 医薬審発第 0603001 号, 平成 15 年 6 月 3 日.
- 6) (社)日本病院薬剤師会:錠剤・カプセル剤の無包装状態での安定性試験法について(答申), 平成 11 年 8 月 20 日.
- 7) 厚生労働省: 第十五改正日本薬局方 (2006).
- 8) 厚生労働省医薬食品局長: 日本薬局方外医薬品規格第三部の一部改正について, 薬食発第 012002 号, 平成 17 年 1 月 20 日.
- 9) 厚生労働省医薬食品局審査管理課長: 医療用医薬品品質情報集について, 薬食審査発第 0221001 号, 平成 17 年 2 月 21 日.
- 10) Marvin C. Meyer, Arthur B. Straughn, Ramakant M. Mhatre, Ajaz Hussain, Vinod P. Shah, Carey B. Bottom, Ewart T. Cole, Larry L. Lesko, Henry Mallinowski, Roger L. Williams: *Pharm. Res.*, 17(8), 962-966 (2000).
- 11) George. A. Digenis, Thomas. B. Gold, Vinod. P. Shah: *J. Pharm. Sci.*, 83, 915-921 (1994).
- 12) 柴田俊之, 中村 任, 奥村勝彦, 栃尾信治, 長田俊治: 医療薬学, 28(6), 594-598 (2002).
- 13) 厚生労働省医薬局審査課長: 安定性データの評価に関するガイドラインについて, 医薬審発第 0603004 号, 平成 15 年 6 月 3 日.
- 14) 医薬品添加物事典 2007: 薬事日報社, 67 (2007).
- 15) 古座谷 醇, 西村健一, 坪野 昇: 製薬工場, 4(1), 28-31 (1984).

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[†])梶村 計志^{*1, #}, 川口 正美^{*1}, 四方田 千佳子^{*2}

(受付:平成23年9月6日, 受理:平成23年12月8日)

Variation in Quality of Sodium Dodecyl Sulfate Used as a Surfactant
in the Dissolution Test for Poorly Water-Soluble Drugs (Part 2)Keiji KAJIMURA^{*1, #}, Masami KAWAGUCHI^{*1} and Chikako YOMOTA^{*2}

Summary

The quality of sodium dodecylsulfate (SDS) reagents used in the dissolution test for poorly water-soluble drugs was investigated. We examined the effect of the pH value of the aqueous test medium containing SDS on the dissolution behavior in this study.

The pH values of aqueous solutions prepared with several commercial SDS reagents (20 samples; 1.0 w/v%) were measured. Three kinds of SDS reagents whose aqueous solutions showed different pH values were selected for further studies. The pH values of aqueous solutions (1.0 w/v%) prepared with these SDS reagents were 5.61, 6.98 and 8.32, respectively. All these SDS reagents conformed to the specification of "Sodium Lauryl Sulfate" prescribed in the Japanese Pharmacopoeia sixteenth edition (purity, water and total alcohol content). The pH-buffering abilities of the dissolution test media except for water were unaffected by the difference of SDS reagents. Dissolution test was carried out using piromidic acid 250 mg tablet, teprenone 50 mg tablet and mefenamic acid 250 mg capsule as test samples, with water as the test medium. It was found that all the above formulations showed different dissolution behaviors dependent on the SDS reagents used. In particular, the dissolution behavior of mefenamic acid capsule was dependent on the pH value of the test medium.

Our findings show that aqueous test media prepared with commercial SDS reagents have different pH values, which may influence the dissolution behavior of the active ingredient.

Key words

Sodium dodecyl sulfate, pH value, Dissolution test, Piromidic acid tablet, Teprenone capsule, Mefenamic acid capsule

緒言

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。著者らは、溶出性に関する 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、イブプロフェ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

[†] 第1報 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 42(7), 622~628 (2011).

^{*1} 大阪府立公衆衛生研究所 大阪市東成区中道 1-3-69 (〒537-0025)
Osaka Prefectural Institute of Public Health, 1-3-69 Nakamichi, Higashinari-ku, Osaka 537-0025, Japan

^{*2} 国立医薬品食品衛生研究所 東京都世田谷区上用賀 1-18-1 (〒158-8501)
National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

責任著者 Corresponding author

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⁹⁾。

本稿では、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²⁻⁴⁾、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。

実験方法

1. 製剤

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

pH 1.2: 日局溶出試験第 1 液⁹⁾

pH 4.0: 酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液, 0.05 mol/L, pH 4.0⁹⁾

pH 6.8: リン酸水素二ナトリウム・クエン酸緩衝液,

pH 6.8⁹⁾

pH 8.0: リン酸水素二ナトリウム・クエン酸緩衝液, pH 8.0⁹⁾

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²⁻⁴⁾、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 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: 1.5 w/v%, 規格試験液 (pH 8.0)

メフェナム酸カプセル: 4.0 w/v%, 規格試験液 (pH 6.8)

テプレノンカプセル: 5.0 w/v%, 規格試験液 (pH 6.8)

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) の医薬品各条「ラウリル硫酸ナトリウム」の規格に従い⁹⁾、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⁹⁾。pH 計は、株式会社堀場製作所製 HORIBA F-52 を使用した。

実験結果

1. SDS 試薬の pH

市販の SDS 試薬を用い 1.0 w/v% 水溶液を調製し、pH を測定した (Fig. 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 (Table 1)。各 SDS 試薬の試験結果は

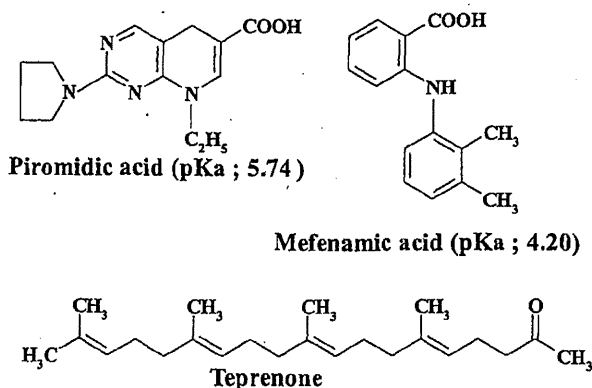


Fig. 1 Molecular Structures of Piromidic Acid, Mefenamic Acid and Teprenone

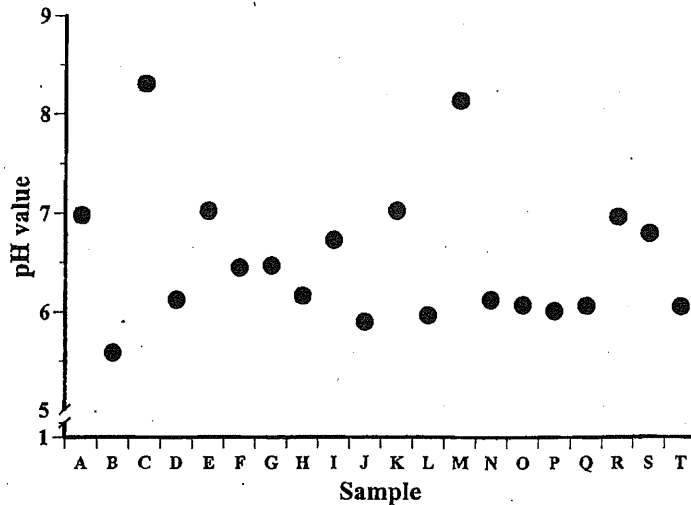


Fig. 2 pH Values of Aqueous Solution (1 w/v%) of Commercial SDS Reagents

Table 1 Test Results of SDS Reagents by the Methods of Prescribed in the Monograph of Sodium Lauryl Sulfate in the Japanese Pharmacopoeia

	Specifications	Results		
		SDS-A	SDS-B	SDS-C
Purity				
(1)Alkalinity	The solution remains yellow	Pass	Pass	Pass
(2)Sodium chloride(%)		0.04±0.01	0.15±0.02	0.07±0.02
(3)Sodium sulfate(%)		0.11±0.02	0.08±0.03	0.07±0.01
Combined content of (2) and (3)	Not more than 8.0%	0.15%	0.23%	0.14%
(4)Un sulfated alcohols(%)	Not more than 4.0%	0.06±0.02	0.22±0.04	0.30±0.04
Water(%)	Not more than 5.0%	0.42±0.01	0.88±0.03	0.91±0.05
Total alcohol content(%)	Not less than 59.0%	60.69±1.70	67.12±1.88	60.08±0.86

Mean ± SD, N=3

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. 溶出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, pH 1.2, pH 4.0, pH 6.8, pH 8.0) 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 (Fig. 3)。水以外の試験液では、5.0 w/v% 溶解した場合でも、pH はほとんど変化せず、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。5.0 w/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 SDS 試薬の影響

ピロミド酸 250 mg 錠、メフェナム酸 250 mg カプセル及びテプレノン 50 mg 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。いずれの 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 (Table 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 (Fig. 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。

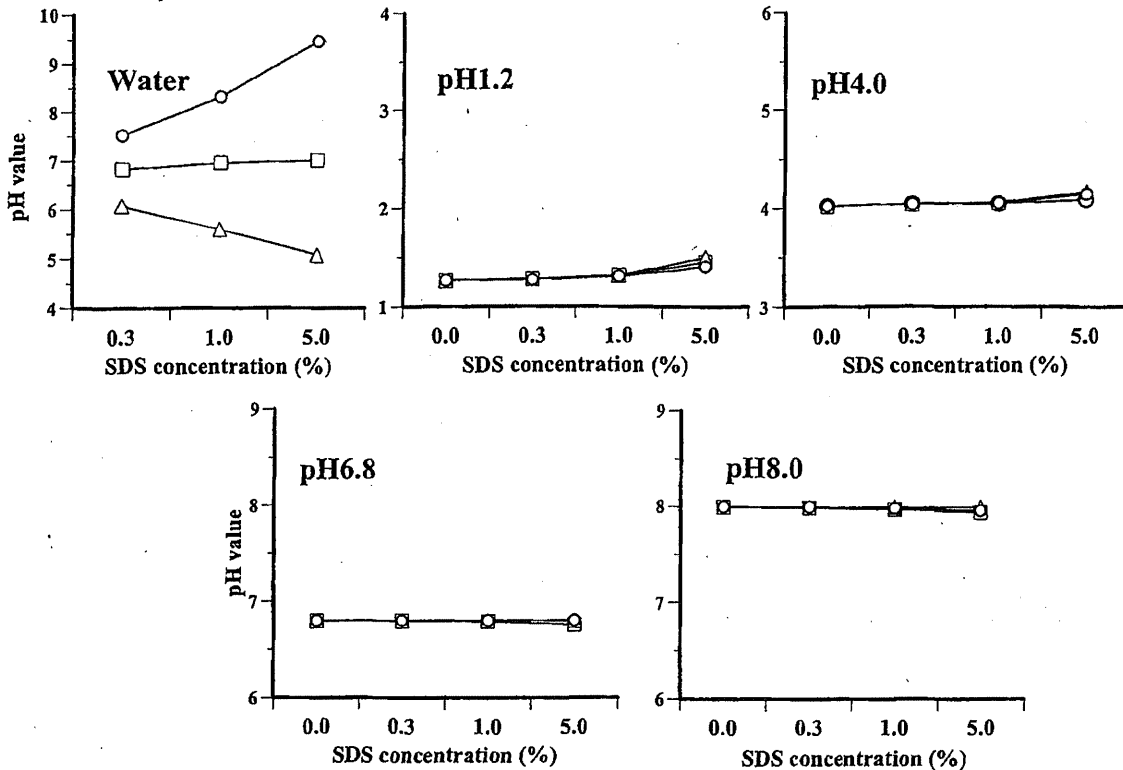


Fig. 3 Effects of SDS Concentration and Difference of SDS Reagent on the pH Buffering Ability of Test Media
□; SDS-A, △; SDS-B, ○; SDS-C

Table 2 Dissolution Test Results of Piromidic Acid Tablet, Mefenamic Acid Capsule and Teprenone Tablet by the Methods Prescribed in the Japanese Pharmaceutical Codex

	Specifications	pH of test medium	Dissolution rate(%)		
			SDS-A	SDS-B	SDS-C
Piromidic acid 250mg tablet	After 45min, not less than 75%	8.0	87.7±1.2	89.0±1.3	87.3±1.1
Mefenamic acid 250mg capsule	After 45min, not less than 75%	6.8	81.8±0.7	82.4±1.6	82.6±1.3
Teprenone 50mg capsule	After 60min, not less than 70%	6.8	94.9±3.8	95.3±4.8	96.1±5.2

Mean ± SD, N=6

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 (Table 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。

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。

著者らは先に、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、本研究で用いられた 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%、

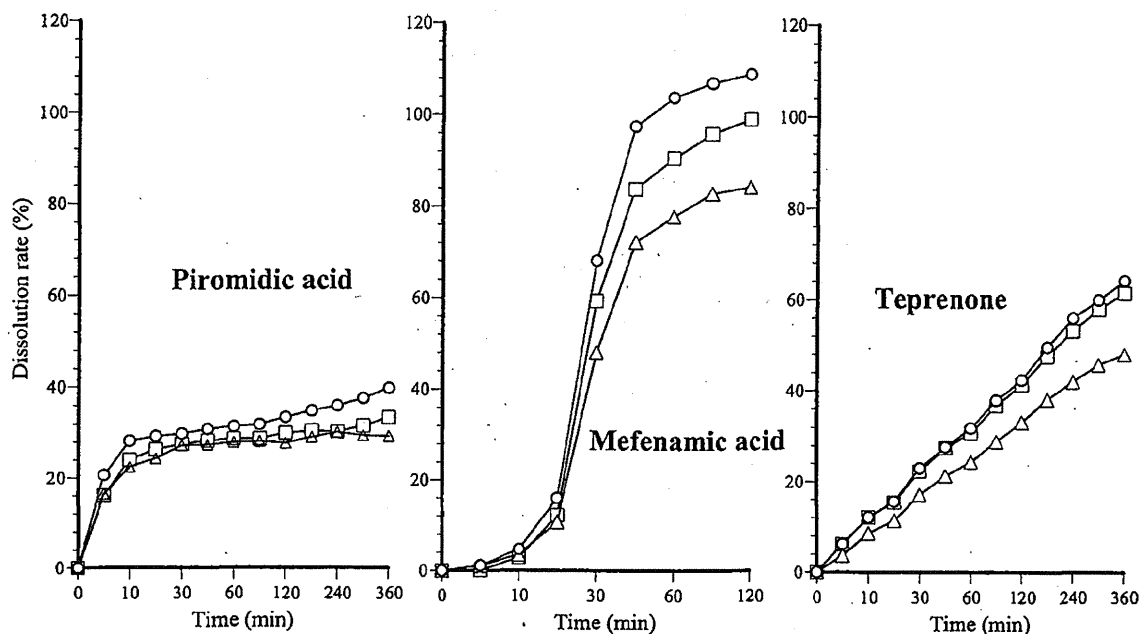


Fig. 4 Effects of difference of SDS Reagents on the Dissolution Behaviors of Piromidic Acid Tablet, Mefenamic Acid Capsule and Teprenone Tablet using Water as the Test Medium
□; SDS-A, △; SDS-B, ○; SDS-C

Table 3 pH Values of Test Media before and after the Dissolution Tests

	SDS	Test	pH value of test medium		
			SDS-A	SDS-B	SDS-C
Piromidic acid 250mg tablet	1.5%	Before	6.83	5.56	8.16
		After	6.56±0.04	5.32±0.02	6.98±0.03
Mefenamic acid 250mg capsule	4.0%	Before	6.98	5.04	9.12
		After	6.45±0.04	5.43±0.01	7.08±0.06
Teprenone 50mg capsule	5.0%	Before	7.00	4.94	9.27
		After	6.85±0.01	4.98±0.03	7.51±0.06

Mean±SD, N=3

SDS-B; 99.9%, SDS-C; 99.8%), 確認された溶出挙動の差は前報と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 250 mg 錠は、局外規第三部に水、pH 1.2, pH 6.8, pH 8.0 の溶出曲線が示されており²⁾、pH 8.0 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⁾。pH 6.98 の試験液中では、pH 8.0 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 250 mg カプセルは、局外規第三部に水、pH 1.2, pH 4.0, pH 6.8 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⁾。Table 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 50 mg カプセルは、局外規第三部に水、pH 1.2, pH 4.0, pH 6.8 の溶出曲線が示されており⁴⁾、pH 1.2 及び pH 6.8 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 (Fig. 1)。局外規第三部では、最も難水溶性が高い製剤に適用される、SDS 試薬を 5 w/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 はいずれも、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 pH 6.8 の試験液

として用いられる。テブ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いずれも、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い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⁸⁾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。本研究における結果から、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。

結 論

市販のSDS試薬を水に溶解し、pHを測定したところ、試薬の間で大きな差が認められた。溶出試験に使用される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しなかった。

溶出挙動にpH依存性がある3種類の製剤について、水を試験液として、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。

謝 辞

本研究は平成23年度厚生労働科学研究「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」の助成を受けたものである。

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(9), 100-105 (2011).
- 2) 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16年10月版, p.108, p.160.
- 3) 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19年1月版, p.125, p.212.
- 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18年3月版, p.109, p.161.
- 5) 第15改正日本薬局方解説書, 東京, 廣川書店, 2006, P.B-340-1039.
- 6) 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.
- 7) 第15改正日本薬局方解説書, 東京, 廣川書店, 2006, P.C-4552-4555.
- 8) 厚生労働省: 後発医薬品の安心使用促進アクションプログラム, 平成19年10月15日.

米国 FDA のドキシルビシン封入 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

柴田寛子*#, 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

Vol. 42, No. 11 別刷（2011年）

一般財団法人 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団

2. ドキソルビシン封入 PEG リポソーム (PLD) について

PLD は粒子径 85~100 nm の単層膜リポソームで、リポソーム内水相（膜内ではなく）にドキソルビシン塩酸塩 (DOX) が含有されている⁹⁾ (Fig. 1)。脂質二重膜は水素添加大豆リン脂質、コレステロール、PEG 脂質より構成され、PEG 鎖はリポソーム表面と内部の両方にあると考えられている。この PEG が形成するリポソーム表面の水和層によって、体内に投与された後に PLD が細網内皮系に取り込まれることを回避し、血中滞留性が延長される⁹⁾。DOX は硫酸アンモニウム勾配を利用した能動的ローディング法によってリポソーム内に封入され、封入効率は 90% 以上で非常に高い¹⁰⁾。更に、リポソーム内の DOX は硫酸イオンとゲル状の不溶性沈殿を形成しており¹¹⁾、*in vivo* 及び *in vitro* において極めて安定に DOX がリポソーム内に保持されることを可能にしてい

る。生体内における PLD の作用メカニズムとしては、長く血中に留まることで EPR (Enhanced Permeation and Retention) 効果¹²⁾ による腫瘍組織への集積が増加し、腫瘍細胞へ DOX を放出することによって抗腫瘍効果を発揮すると考えられている¹³⁾。腫瘍組織でどのように DOX が細胞に取り込まれるのか、詳細なメカニズムは解明されていないが、腫瘍組織の低 pH やホスホリパーゼによって徐々に放出されるか、腫瘍関連マクロファージや腫瘍細胞に取り込まれると予想されている¹⁴⁾。したがって、1) DOX の安定封入、2) 血中滞留性の延長、3) EPR 効果による腫瘍組織への集積、4) 腫瘍細胞への DOX 放出、が PLD の重要特性と考えられる。これら重要特性に影響すると考えられている要因を列举すると (Table 1)、PLD の重要特性には製剤側の物理化学的要因が数多く影響することが分かる。PLD ドラフトガイドランスは以上の背景に基づいて作成されている。

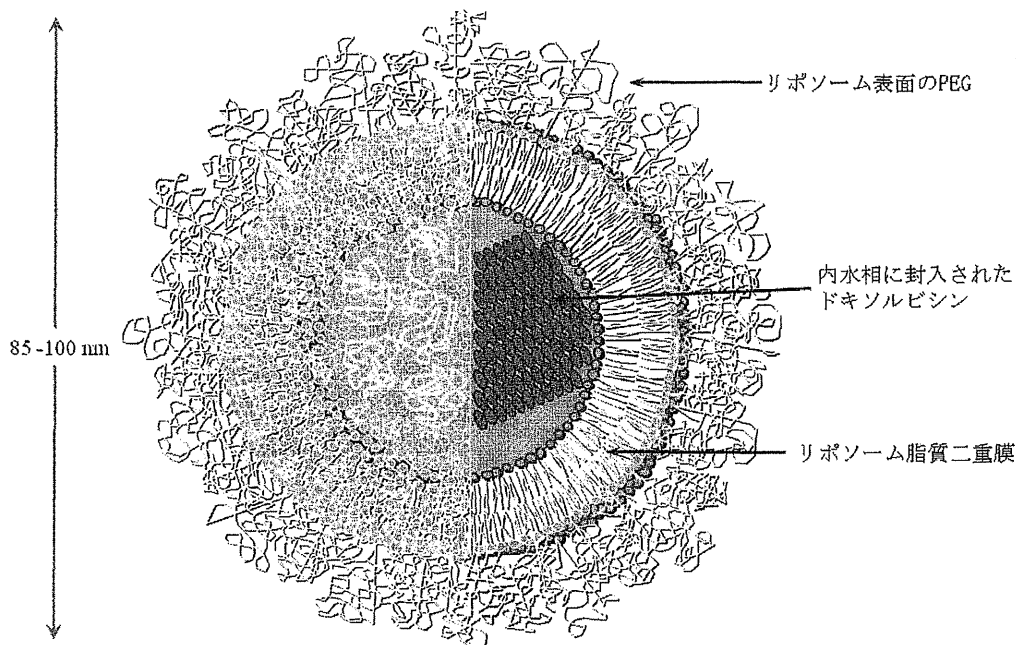


Fig. 1 ドキソルビシン封入 PEG リポソームの構造

Table 1 PLD の重要特性

重要特性	影響要因
ドキソルビシンの安定封入	薬物/脂質濃度比, 内部体積, 硫酸アンモニウム勾配 脂質二重膜の物理的状態
血中滞留性の延長	ドキソルビシンが安定にリポソーム内部に保持され漏ししないこと →脂質二重膜の状態, 封入薬物の状態 (液体/ゲル), リポソーム内部環境 タンパク結合や細網内皮系による取込みが最小限に抑えられていること →脂質組成, 粒子径, 表面荷電, 脂質密度, 立体安定化
EPR 効果による腫瘍組織への集積	粒子径 (100nm 以下が望ましい), 脂質組成 腫瘍の種類, 腫瘍微小環境
腫瘍細胞へのドキソルビシン放出	腫瘍組織内の pH やホスホリパーゼ, 炎症性細胞, 腫瘍関連マクロファージ その他, 製剤側の要因は薬物漏出への影響要因と同様

Table 5 前提条件に記載された同等であることが求められているリポソーム特性

特性	目的・概要	評価・測定方法例
リポソームの組成	脂質組成、遊離薬物及び封入薬物、内部及び総硫酸とアンモニウム濃度、ヒスチジン濃度、シヨ糖濃度といったリポソームの組成を測定する。薬物/脂質含有比及び薬物封入率をリポソーム組成値から計算する。	PEG 脂質：ピクリン酸試薬発色法 3種類の脂質含量：蒸発光散乱検出器-HPLC 分析 内部硫酸イオン濃度：シリンジろ過とイオンクロマトグラフィーによるリポソーム外の遊離イオン濃度と総イオン濃度の測定から算出 内部アンモニウムイオン濃度：硫酸イオンと同様に、遊離イオン濃度と総イオン濃度から算出
薬物封入状態	DOXIL 中のドキシソルピシンは、大部分がリポソーム内でドキシソルピシン硫酸塩の状態で沈殿形成している。後発製剤はリポソーム内で同様のドキシソルピシンの沈殿を形成していなければならない。	吸光度変化 (470/550nm) や蛍光測定 X線回折 低温透過電子顕微鏡法
内部環境 (容積, pH, 硫酸及びアンモニウムイオン濃度)	容積や pH, 硫酸及びアンモニウム濃度といったリポソームの内部環境がドキシソルピシンの沈殿した状態を保持している。構成成分の総量と遊離濃度からリポソーム内部の濃度を推定してもよい。	各成分の総濃度と遊離濃度から内部濃度を算出
リポソームの形態・ラメラの枚数	薬物封入、薬物保持、更には薬物放出率はラメラ構造の程度に影響されやすいため、リポソームの形態やラメラ構造は測定すべきである。	透過電子顕微鏡法 ³¹ P-NMR X線小角散乱法 低温電子顕微鏡法 原子間力顕微鏡法
脂質二重膜の相転移	脂質二重膜の相転移の同等性は、脂質二重膜の流動性と均一性の証明に有効である。脂質添加物やリポソームの相転移プロファイルは標準製剤と類似であること。	示差走査熱量測定法
リポソームの粒子径分布	粒子径分布は受動ターゲティングの同等性を保証する上で重要である。標準製剤と試験製剤の粒径を比較するために適切な粒子径測定法を選択すべきである。測定するバイアル数は少なくとも各バッチ 10 バイアル、総数 30 バイアル以上で行うべきである。	動的光散乱法 (DLS) レーザー回折 動的光散乱法と流動場分離法 静的光散乱法と流動場分離法 サイズ排除クロマトグラフィー DLS とサイズ排除クロマトグラフィー X線小角散乱法 フローサイトメトリー 低温電子トモグラフィー
リポソーム表面の PEG	リポソーム表面を methoxypolyethylene glycol で覆うことで、単核食細胞系による貪食から回避され、血中滞留時間が延長する。PEG 層の厚さは熱力学的に制限され、数ナノメートル程度であると推測されている。PEG 層の厚さを測定すべきである。	表面電位測定によるリポソームの表面固定水和層の評価 NMR 分光法による PEG 脂質の定量と局在解析
表面電位・電荷	表面電荷はクリアランス、組織分布、及び細胞取込みに影響を及ぼす。リポソームの表面電荷を測定すべきである。	電気泳動法
<i>In vitro</i> 漏出率	脂質二重膜や封入されたドキシソルピシンの物理的状态を明確にするための <i>in vitro</i> 薬物漏出試験は、様々な生理条件下において制御されない薬物漏出が無いこと、ガン細胞への薬物送達と同程度であることを裏付けるために実施する。試験条件例を Table 7 に示す。	放出試験液 (2 M 塩化アンモニウム, 0.2 M ヒスチジン, pH 6.5) と製剤を 3 : 1(v/v) で混合し、52°C で 3 時間インキュベート後、放出率を測定

の評価に関しては、“3.3 *in vitro* 試験”でコメントする)。その他の特性も重要と思われるが、Table 6 のコメントを見ると否定的な意見も見受けられる。例えば、表面電位・電荷は、電気泳動法によるゼータ電位の測定が一般的であるが、イオン強度に影響されやすい上、PLD のような表面電位の弱いリポソームでは再現性が悪い；脂質

二重膜の相転移は主に DSC で測定されるが、特にコレステロール含量が多いリポソームの場合は明確な相転移は観察されない可能性が高く、測定意義は限られる；薬物封入状態やリポソームの形態・ラメラの枚数は、電子顕微鏡分析で評価可能であるが、観察できる視野に限りがある上、サンプル調製操作によってアーチファクトが

Table 8 米国 FDA の溶出試験データベースに記載されている非経口製剤に対する溶出試験条件 (一部抜粋)

Active Ingredient	Dosage Form	Route*1	Product Name	USP apparatus	Speed	Medium	Volume	Recommended Sampling Times
Azacitidine	Injectable	IV	Vidaza	—	—	Develop a dissolution method	—	—
Bethamethasone acetate, Betamethasone sodium phosphate	Suspension	IM	Celestone soluspan	IV(Flow-Through Cell)	8mL/min	0.05% SLS, pH 3.0 or *2	—	5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300, and 360 minutes
Doxorubicin Hydrochloride	Liposome	IV	Doxil	—	—	Develop a method to characterize in vitro release	—	—
Leuprolide Acetate	Microsphere	IM	Lupron Depot	—	—	*2	—	—
Leuprolide Acetate	Implant	SC	Viadur	—	—	—	—	—
Methylprednisolone Acetate	Suspension	IM etc.	Depo-Medrol	IV(Flow-Through Cell Open-System)	—	0.5 % SDS	—	15, 30, 45, 60, 90 and 120 minutes
Naltrexone	Microsphere	IM	Vivitrol	—	—	—	—	—
Octreotide Acetate	Microsphere	SC	Sandostatin LAR	—	—	*2	—	—
Phytonadione	Injectable	IV	Vitamin K1	—	—	—	—	—
Risperidone	Microsphere	IM	Risperdal Consta	—	—	*2	—	—
Triamcinolone Acetonide	Injectable	IL	Kenalog-10	—	—	*2	—	—
Triptorelin Pamoate	Microsphere	IM	Trelstar Depot	II (Paddle)	200	Water-Methanol (95:5); Reconstitute vial in 2 mL Water for Injection, add to 500 mL medium at 37°C	500 mL	1, 6, 12, 24, 48 and 72 hours
Goserelin Acetate	Implant	SC	Zoladex	Prior to sampling, the jar is removed from incubation and mechanically swirled with digital orbital shaker	Swirl orbit of 50 mm at 205 rpm for 6seconds	Each implant should be incubated in 50 mL of phosphate buffered saline, pH 7.4, at 39°C (warmed overnight before the implants are added), in a 120-mL Wheaton jar.	50 mL	3, 14, 35, 56 and 84 days (10.8 mg strength); 7, 14, 17, 21 and 28 days (3.6 mg strength)

*1 IV : Intravenous, IM : Intramuscular, SC : Subcutaneous, IL : Intralesional administration

*2 Develop a dissolution method using USP IV (Flow-Through Cell), and, if applicable, Apparatus II (Paddle) or any other appropriate method, for comparative evaluation by the Agency

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梶村 計志^{*1,*}, 川口 正美^{*1}, 四方田 千佳子^{*2}

(受付:平成24年1月17日, 受理:平成24年5月17日)

Effect of Variation in the Quality of Polysorbate80 Used in the Dissolution Test as a
Surfactant for Poorly Water-Soluble DrugsKeiji KAJIMURA^{*1,*}, Masami KAWAGUCHI^{*1} and Chikako YOMOTA^{*2}

Summary

Polysorbate 80 (PS80) is a polyoxyethylene ether of anhydrous sorbitol, partially esterified with oleic acid. It is used as a surfactant to improve solubility in dissolution tests for poorly water-soluble drugs. The purpose of this study was to examine the effect of the chemical quality of PS80 on dissolution behavior.

Ten types of commercial PS80 samples were used in this study. Each PS80 sample was colorless or orange-yellow, and the pH values of their aqueous solutions (5.0 w/v%) were within the range of 5.73-6.73. All these PS80 samples conformed to the specifications of the Japanese Pharmacopoeia, sixteenth edition (acid value, saponification value, and iodine value). However, their acid values differed.

HPLC analyses of these samples were carried out using a differential refractive index detector. Multiple peaks were observed in each chromatogram. The chromatographic behaviors of these samples were classified into three types. The absorption spectra of the PS80 samples were measured by Fourier-transform infrared spectroscopy. The spectral features were not identical among the PS80 samples.

Dissolution tests were performed using nabumetone 400 mg tablet, riboflavin butyrate 40 mg tablet and allylestrenol 25 mg tablet as drug samples. Three types of commercial PS80 of different chemical quality were used for these tests. It was found that dissolution behavior of each test tablet remained the same, irrespective of the PS80 preparation used.

Key words

Polysorbate 80, Tween 80, Chemical quality, Dissolution test, pH value, Infrared absorption spectra, HPLC chromatographic pattern, Fat and fatty oils test, Nabumetone tablet, Riboflavin butyrate tablet, Allylestrenol tablet

緒言

非イオン性の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 (Fig. 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⁾。

著者らはこれまで、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

^{*1} 大阪府立公衆衛生研究所 大阪市東成区中道 1-3-69 (〒537-0025)

Osaka Prefectural Institute of Public Health, 1-3-69 Nakamichi, Higashinari-ku, Osaka 537-0025, Japan

^{*2} 国立医薬品食品衛生研究所 東京都世田谷区上用賀 1-18-1 (〒158-8501)

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

^{*} 責任著者 Corresponding author