

201328054A

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方法の
改正に関する研究

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 四方田 千佳子

平成26(2014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改正に関する研究

四方田千佳子 ----- 1

II. 分担研究報告書

1. 過飽和型経口製剤の評価

川上亘作 ----- 7

2. 長期徐放性注射製剤の放出試験法及び放出メカニズムに関する研究-1

－米国 FDA の長期徐放性注射製剤に対する

生物学的同等性の推奨事項及び溶出試験方法－

柴田寛子 ----- 17

3. 長期徐放性注射製剤の放出試験法及び放出メカニズムに関する研究-2

－in vitro 放出性試験方法の文献調査と放出性に影響を及ぼす要因の検討－

柴田寛子 ----- 25

4. 吸入製剤の評価法に関する検討

吉田寛幸 ----- 37

5. 生物学的同等性ガイドラインの国際整合に関する基礎的検討、

経口固形製剤の評価法に関する検討

－経口固形製剤に異なる結晶形を用いる場合の考え方と必要となる情報－

四方田千佳子 ----- 45

別添資料 1

Guidance for Industry, ANDAs: Pharmaceutical Solid Polymorphism
Chemistry, Manufacturing, and Controls Information

別添資料 2

5.9 Polymorphism

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改正に関する研究

平成 25 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 薬品部客員研究員

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、製剤の多様化につれて、新たな手法や考え方を取り込んでいく必要がある。本研究では、生物学的同試験ガイドラインの改定を念頭に、特殊な製剤の評価法の検討、難溶性薬物の溶出性評価法、異なる結晶形原薬を経口固形製剤に用いる場合の考え方などを検討した。

過飽和型経口製剤の評価 難水溶性薬物の経口吸収性改善に様々な過飽和型製剤が利用されているが、その吸収促進メカニズムや保存安定性に関しては未解明の点も多い。本年度は、非晶質製剤の溶解過程の評価法、および溶解に影響を与える保存安定性に関する検討を行った。リトナビアとロピナビアの腸溶性非晶質合剤をエレクトロスプレー法にて調製し、溶出試験とラットにおける経口吸収性の相関を評価したところ、溶解過程における過飽和状態からの微粒子形成が、フローズルーセル法で簡便に定量評価可能であった。非晶質製剤の保存安定性の予測では、慎重に制御された条件下で、原薬のガラス転移温度が 48°C 以上であれば、25°C で 3 年間の物理安定性を担保可能であることが明らかとなった。

長期徐放性注射製剤の放出試験法及び放出メカニズムに関する研究 マイクロスフェア製剤の in vitro 放出試験に関する文献調査を行うと共に、リスペリドン封入マイクロスフェア製剤を対象に、“連続フロー法”において試験液中の界面活性剤の有無と流速が放出性に及ぼす影響を調査し、流速の影響は殆ど無いこと、使用するセルの種類によって界面活性剤の影響が異なることを示した。また、FDA の、マイクロスフェア製剤において生物学的同等性を示すための推奨事項につき、設定目的や背景などを概説した。

吸入製剤の評価法に関する検討 吸入粉末剤の空気力学的粒度分布試験に汎用されるアンダーセンカスケードインパクターについて、プレセパレーターに充填する溶液の種類が粒度分布試験結果へ与える影響について検討した。流量 28.3 l/min および 60 l/min において、プレセパレーターに精製水を入れ場合の各ステージの薬物回収量および 5 μm 以下の微粒子量は、メタノールを入れた場合と比較して小さくなる傾向が認められた。この現象には、溶液が持つ表面張力の関与が示唆され、10 %以上のエタノール水溶液など表面張力が 50mN/m 以下の溶液では認められないことが示された。

経口固形製剤に異なる結晶形を用いる場合の考え方と必要となる情報 原薬として異なる結晶形のものを用いる場合の考え方として、平成 23 年度 6 月に「異なる結晶形を有する医療用医薬品の取り扱いについて」が発出され、我が国における結晶形に対するスタンスが示されている。そこで、本報告では、諸外国の結晶形の異なる原薬に関するガイダンスや、公定書を参照して、諸外国における考え方を参照すると共に、結晶形の異なる原薬から成る製剤を申請する場合に必要な情報についてまとめることを試みた。

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
キーワード： 生物学的同等性ガイドライン、過飽和型経口製剤、長期徐放性注射製剤、
吸入製剤、結晶形

分担研究者

川上亘作 物質・材料研究機構 国際ナノ・キエクトニクス研究拠点

吉田寛幸 国立医薬品食品衛生研究所 薬品部

柴田寛子 国立医薬品食品衛生研究所 薬品部

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、試験条件に対する規定が詳細であったため、ガイドラインの運用に不都合な点が出てくるようになっていた。そこで、平成 24 年には、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を目指して改定された。

今後、製剤の多様化に伴って、製剤間の同等性の評価はいろいろな評価手法を必要とし、新たな考え方の導入も必要となると思われる。

まず、難溶性製剤の評価法、マクロスフィア製剤の放出試験法、インハレーション製剤の粒子サイズの評価に関して、基礎的な検討を開始すると主に、経口固形製剤の原薬として、結晶形の異なるものを用いる場合の考え方などにつき、検討した。

B. 研究方法

(倫理面への配慮)

特になし。

B-1. 過飽和型経口製剤の評価

非晶質製剤は、凍結乾燥法もしくはエレクトロスプレー (Electrospray Deposition, ESD) 法により調製した。凍結乾燥法においては、各種薬物および添加剤を所定量含有した t-BuOH 溶液を -20℃で凍結したのち、常温にて一晚減圧乾燥することにより調製した。製剤の結晶性および結晶形は粉末 X 線回折により評価した。示差操作熱量測定 (DSC) も、評価に併用した。溶出試験はパドル法とフロースルーセル法で検討した。

ラットへの経口投与実験は、24 時間絶食させた 7 週齢の SD ラットに、0.1%メトセル溶液に懸濁させた製剤を、2 mg/mL/kg 投与した。所定時間後に採取した血液中の薬物量を LC-MS により定量した。

非晶質原薬の物理安定性評価では、各種原薬を約 3 mg ずつ DSC パンに秤量し、DSC で融点+10℃

まで加温後 50℃/min で急冷することによって、非晶質原薬を得た。そのまま様々な温度条件下にて乾燥状態で保管し、任意時間経過後に結晶性と結晶化度を評価した。

B-2. 長期徐放性注射製剤の放出試験法及び放出メカニズムに関する研究

文献調査では、PubMedで”microsphere”, “in vitro (drug) release”, “testing” もしくは”method” をキーワードとして検索し、主に製剤分野のジャーナルの文献を調査対象とした。また、FDA のホームページに公開されている文書、およびデータベースについても調査対象とした。

リスパダールコンスタをモデル製剤として、”連続フロー法”における、溶出挙動に対する流速と界面活性剤の影響を検討した。

B-3. 吸入製剤の評価法に関する検討

モデル薬物として、フルチカゾンプロピオン酸エステル (FP) の DPI である、フルタイドディスク 200 (グラクソ・スミスクライン株) を用いた。

粒子の再飛散を防止するため、ACI (Copley Scientific Ltd.) の各ステージの捕集盤を 2 % Brij35/グリセロール溶液でコーティングした。PS に、精製水、メタノールまたは各種濃度のエタノール水溶液を 10 ml 加え、空気容量 4 L となる時間、ポンプ吸引した。

B-4. 経口固形製剤に異なる結晶形を用いる場合の考え方と必要となる情報

結晶多形に対する、FDA の承認申請におけるガイダンス、諸外国の局方を参考としてまとめ、我が国の結晶多形を有する医薬品の承認申請に当たって必要とされる情報についてまとめた。研究協力者に、必要とされるデータ等に対するメーカー側のコメントを求め、最終案に集約した。

C. 研究結果

C-1. 過飽和型経口製剤の評価

リトナビル (RTV) とロピナビル (LPV) を PVP とともに内相に封入し、外相をオイドラギット L-100 として ESD 粒子を調製したところ、いずれの薬物も再現性よく完全に非晶化することが、XRPD および DSC 測定より確認された。ESD プロセスにおいて、内相を形成させるための薬物溶液の

供給速度と、外相を形成させるためのオイドラギット溶液の供給速度の比を、4/6 もしくは 2/8 として粒子を調製した。LPV については溶解度以上の製剤量を用いており、結晶溶解度に相当する量が溶解した場合には、溶出割合は 80%となるが、結晶の溶解は非常に遅く、2 時間経過後も 12%しか溶解しなかった。非晶質製剤はいずれも溶出性が改善したが、特に ESD 製剤の溶出性は、凍結乾燥製剤と比較しても良好であった。いずれにおいても RTV は LPV より早く溶出しているが、これは RTV の試験量が LPV の 1/4 であるためと考えられる。

各製剤をラットに経口投与したときの、血中薬物 (LPV) 濃度は、結晶原薬を投与した場合には、ほとんど吸収は認められなかったが、非晶質製剤化によって顕著な吸収改善が認められた。一方、凍結乾燥製剤の溶出性は ESD 製剤より大きく抑えられていたものの、良好な経口吸収性が得られた。これは凍結乾燥製剤が粒子状ではないために、攪拌力が弱い溶出試験では凝集してしまうことが原因と考えられた。

非晶質製剤の保存安定性の予測では、様々な医薬品原薬の結晶化挙動を Avrami- Erofeev 式で解析することによって得られた 10%結晶化時間 t_{10} を、ガラス転移温度 T_g と保存温度 T の比の関数として解析した。DSC で降温、昇温ストレスを与えると結晶化する薬物群では、その結晶化は温度支配 (熱力学支配) と言える。結晶化に対するエネルギー障壁が大きく、温度ストレスでは結晶化しない薬物群は、圧力支配 (速度論支配) の化合物である。これらの結晶化開始時間は、温度支配の場合の結晶化時間よりも遅い。医薬品原薬の結晶化時間は論文によってばらつきが大きいですが、本研究においては極めて表面積の小さいサンプルを乾燥条件下で保管しており、このように条件を慎重に制御することで、化合物種によらない一般則を見出すことに成功した。

C-2. 長期徐放性注射製剤の放出試験法及び放出メカニズムに関する研究

文献調査から、マイクロスフェア製剤の *in vitro* 放出試験を設定する際に、どの試験方法を選択するかは、各方法の特徴や利点・欠点を踏まえた上で、試験の目的と、製剤の特性や封入薬物の溶解性によって決定される。例えば、製剤開発の初期の段階では、最も簡便かつ直接的に *in vitro* 放出性を評価できる”試料採取と分離法”が採用され、ルーチンで実施する品質管理試験などは試料採取が容易な”連続フロー法”を使用する場合が考えられる。

測定条件の検討では、フローセルへのマイクロスフェア製剤の設置方法は、12mm セルにガラスビーズと混ぜて入れる方法と、散剤用セルのドーム型メッシュの下に入れる方法の 2 種類を用いた。なお、放出プロファイルと比較するパラメーターとして、累積放出率 50%および 85%となる点を算出した。界面活性剤 (ポリソルベート 20) を添加したほうがわずかに放出速度が速くなる傾向が認められるが、放出プロファイルに大きな影響は認められなかった。一方で、散剤用セルでは界面活性剤の有無で放出プロファイルが大きく異なることが判明した。およそ 5 日目まではほぼ同様の放出プロファイルが観察されたが、その後、界面活性剤を添加していない方で放出速度が遅くなり、試験期間内に放出率が 100%に達しなかった。

”連続フロー法”において、12 mm セルにガラスビーズとマイクロスフェア製剤を混和して試験を実施する場合は界面活性剤の影響は殆どないが、散剤用セルで試験を実施する場合は界面活性剤の有無が放出挙動に大きく影響することが示された。

C-3. 吸入製剤の評価法に関する検討

吸入粉末剤 (DPI) の場合、乳糖添加物など $10\mu\text{m}$ を超える比較的大きな粒子径を持つ粒子が混在することから、それら巨大粒子の除去を目的として、捕集ステージのさらに上流にプレセパレーター (PS) を設置することが規定されている。欧州医薬品庁の吸入剤後発品の同等性ガイドラインには、適用患者群の吸入流量を考慮した幅のある流量で試験を実施するよう記載があることから、流量は 28.3 l/min、60 l/min、90 l/min を選択した。PS にメタノールまたは精製水を入れて、28.3 l/min で FP-DPI を噴霧したところ、メタノールを入れた時と比較して、精製水を入れた時の S0 から S5 における FP の回収量が少なくなる傾向にあった。またこの時の空気力学的中位径 (MMAD)、幾何標準偏差 (GSD) に顕著な差は認められなかったものの、 $5\mu\text{m}$ 以下の微粒子量 (FPD) も精製水使用時に小さくなる傾向が認められた。流量を 60 l/min にした場合、28.3 l/min 試験時と同様に、メタノール使用時よりも精製水を PS に入れた時、各ステージにおける FP の回収量および FPD が小さくなる傾向が認められた。このことから、PS 内に入れる溶液の種類によって、粒度分布試験結果に差が出る可能性が示唆された。一方、90 l/min で試験した場合、メタノールと精製水で各ステージの回収量及び各種パラメータに差は認められなかったことから、高流量での試験では差

が出にくい現象であると推察された。

C-4. 経口固形製剤に異なる結晶形を用いる場合の考え方と必要となる情報

平成 23 年 6 月 16 日に薬食審初 0616 第 1 号により、異なる結晶系統を有する医療用医薬品の取り扱いについてが発出された。

新規承認時には、先発医薬品と、代替え新規承認あるいは承認事項の一部変更承認申請に当たって、結晶形を変えたことにより、品質、有効性及び安全性における同等性を確認する必要があるとされ、通常の申請用の添付文書以外に、結晶形の特性に応じて追加の添付資料が必要となる場合があるとされていたが、この場合に必要とされる標準的な添付資料に関する指針が待たれていた。

そこで、経口固形製剤で、異なる結晶多形の原薬に切り替えあるいは追加する場合に必要な情報として以下のようにまとめた。

1. 全ての結晶多形で溶解性が類似しているか、溶解性が異なっても全ての結晶多形が高溶解性である場合

結晶多形は製剤の有効性や安全性に大きな影響はないと考えられるため、この場合には、既に既存製剤で用いられている原薬の結晶形と、変更あるいは追加する原薬の結晶多形で溶解度に差がないこと、いずれも高溶解性であることで、特にその他の追加データは必要でない。

2. 結晶形の異なる原薬間で、溶解度が異なる場合（低溶解性の原薬がある場合）以下の情報が必要である。

- ・原薬の結晶形を特製するための規格を設定する（IR のスペクトル情報など）こと必要があり、結晶転移に関する情報も不可欠である。
- ・原薬の晶析溶媒が異なることに基づく残留溶媒や類縁物質の詳細情報
- ・製剤の生物学的同等性の確認は、「2013 年 4 月 19 日 事務連絡 経口固形製剤の製法変更の生物学的同等性試験に係る考え方」を参考にして実施した試験結果の情報必要であり、消化管内での溶出性が変わる可能性があるため、結晶形の変更がバイオアベイラビリティに及ぼす影響について十分な検討を行う必要がある。
- ・製剤中で結晶転移の可能性の有無を検討し、可能であれば、結晶の存在比を検討する。
- ・製剤の加速試験では予測できない結晶転等が起こる可能性があるため、加速試験のみで申請する場合は、長期保存試験による安定性確認を行う必要がある。安定性試験においては、類縁物質の変化を十分に検討する。

D. 考察と結論

D-1. 過飽和型経口製剤の評価

難水溶性薬物に適用される過飽和型経口製剤の評価技術を高めるべく、その溶解過程の評価法および溶解に影響を与える物理安定性に関する検討を行った。RTV と LPV の腸溶性非晶質合剤を用いて、溶出試験とラットにおける経口吸収性の相関を評価したところ、フロースルーセル法の様々な有用性が見出された。本手法においては崩壊した原薬が溶出液に混入することはないが、溶出が速やかに起こる非晶質製剤の場合は、溶出液の中に不溶性粒子が生じることが分かった。これは過剰に溶解した薬物が不溶化したものと考えられ、従来の溶出試験の手順では無視される可能性が高いものである。フロースルーセル法においては、これも含めた評価が容易に行えることが分かった。また溶出途中で JP-1 液から中性条件へ変化させる実験も容易であり、腸溶性被膜を厚くすることによって経口吸収性が下がる現象の説明に成功した。

非晶質原薬を用いた結晶化速度評価においては、検体の表面積を小さくし、乾燥条件で保存することによって、結晶化開始時間の一般論を導くことに成功した。結晶化が温度依存の化合物については、結晶化開始時間は化合物種に依存せず、ガラス転移温度のみの関数となることが分かった。結晶化が圧力依存の化合物の場合はさらに安定なため、いかなる化合物についても、ガラス転移温度から結晶化時間が予測できることが分かった。

D-2 長期徐放性注射製剤の放出試験法及び放出メカニズムに関する研究

文献調査から、最終的にどの方法が適切かは実際に試験法を比較し、生体内挙動との関連性や許容できる試験期間、妥当性確認の観点から判断され、試験方法が構築されるものと考えられる。

検討した”連続フロー法”においては、12mm セルでは界面活性剤の影響は殆ど認められなかったが、散剤用セルでは界面活性剤を添加しないと放出速度が遅くなるなど放出プロファイルが変化した。これは、12mm セルでは製剤がガラスビーズと混ざり分散した状態であるのに対し、散剤用セルではドーム型メッシュで大きな固まりになるのは防がれているものの、試験液の流れの中で製剤同士がくっつき凝集が起こりやすいためと考えられる。“連続フロー法”を使ってマイクロスフェア製剤からの薬物放出性を評価する際の試験条件が放出挙動に及ぼす影響を調査し、試

験液の流速は4-16 mL/minの範囲では放出挙動に殆ど影響しないこと、散剤用セルを使用する場合は試験液への界面活性剤の有無が薬物放出プロフィールに大きく影響することを示した。

D-3. 吸入製剤の評価法に関する検討

表面張力が高い精製水を使用した場合、PS内の水面で発生する風波によって液面が大きく乱れ、薬物がより多く回収されてしまい、その結果、下流ステージに移行する薬物量が減少したものと推察された。PS内に入れる溶液について、特に表面張力が高い精製水を用いた場合に、空気力学的粒度分布試験結果に影響が出ることが示された。そのため、PS内の溶液の選択は主薬の物性および分析法に依存するものの、選定には注意する必要がある。またNGI用のPSは、構造は異なるものの、ACI用PSと同じく溶液を使用して慣性力により巨大粒子を捕集するシステムであることから、本研究で認められた現象が起こる可能性があり、さらなる検討が必要と考えられる。

D-4. 経口固形製剤に異なる結晶形を用いる場合の考え方と必要となる情報

経口固形製剤に異なる結晶形を用いる場合の考え方と必要となる情報について、FDAのガイドランスや、EPの一般的記載を参考に、まとめた。結晶の溶解度が十分に高い場合には、特に有効性、安全性に大きな影響は無いと考えられ、低溶解性の検証形を本居場合には、慎重なデータを示した対応が必要であるとした。

E. 健康危険情報

特になし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) K. Kawakami, T. Harada, K. Miura, Y. Yoshihashi, E. Yonemochi, K. Terada, H. Moriyama, “Relationship between crystallization tendencies during cooling from melt and isothermal storage: Toward a general understanding of physical stability of pharmaceutical glasses” submitted to Mol. Pharmaceutics (revised).
- 2) S. Sakuma, N. Ishizuka, S. Matsumoto, K. Kawakami, “Improvement of oral absorption of lopinavir by co-encapsulation of ritonavir into enteric-coated particles prepared by coaxial electrospray deposition” to be submitted.
- 3) Shibata H, Yomota C, Okuda H. :

Simultaneous determination of polyethylene glycol-conjugated liposome components by using reversed-phase high-performance liquid chromatography with UV and evaporative light scattering detection. AAPS PharmSciTech. 2013 Jun;14(2):811-7.

2. 学会発表

- 1) K. Kawakami, “Crystallization Tendency of Pharmaceutical Glasses”, The Fifth International Symposium on the New Frontiers of Thermal Studies of Materials (October 2013, Yokohama)
- 2) 川上亘作, 「非晶質原薬の物理安定性予測」第49回熱測定討論会 (2013年11月、船橋)
- 3) K. Kawakami, T. Harada, Y. Yoshihashi, E. Yonemochi, K. Terada, H. Moriyama, K. Miura, “General Understanding of Physical Stability of Pharmaceutical Glasses”, 9th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology (March 2014, Lisbon)
- 4) Hiroko Shibata, Ken-ichi Izutsu, Chikako Yomota, Haruhiro Okuda, Yukihiro Goda: Separation and quantification of polyethylene glycol-conjugated liposome components by reversed-phase HPLC analysis with UV and evaporative light scattering detection. AAPS (2013.11)
- 5) 柴田寛子, 四方田千佳子, 奥田晴宏 : マイクロスフェア型徐放性製剤の薬物放出性評価: フロースルーセル法溶出試験装置の利用 日本薬剤学会第28年会 (2013.5)
- 6) 吉田寛幸, 奥田晴宏, 四方田千佳子 : カスケードインパクトのプレセパレーター内液種が粒子径評価に与える影響に関する検討。日本薬剤学会第28年会 (2013.5.名古屋)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

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方法の改正に関する研究

平成25年度 研究分担報告書

過飽和型経口製剤の評価

研究分担者 川上亘作 物質・材料研究機構 国際ナノアーキテククス研究拠点 MANA 研究者

(研究要旨)

難水溶性薬物の経口吸収性を改善すべく、様々な過飽和型製剤が利用されているが、その吸収促進メカニズムや保存安定性に関しては未解明の点も多い。本研究では、代表的な過飽和型製剤である非晶質製剤について、吸収促進効果を予測するための溶出性評価法、および溶出性に影響を与える保存安定性予測法の確立を目指し、検討を行った。溶出性の観察は、フロースルーセル法を中心として行った。リトナビアとロピナビアの腸溶性非晶質合剤をエレクトロスプレー法にて調製し、溶出試験結果とラットにおける経口吸収性の相関を評価したところ、フロースルーセル法の様々な有用性が見出された。まず、非晶質製剤においては、溶解過程で過飽和状態から微粒子が形成されることがあるが、フロースルーセル法ではそれを簡便に定量評価できることが分かった。また腸溶性被膜の厚さを変えることによってラットにおける経口吸収性が変化するが、それが消化管内における pH 変化に対する応答性の違いに由来することが、溶出途中で溶液条件を変化させる試験法より示唆された。

非晶質製剤の保存安定性を予測することは現状不可能であるが、慎重に制御された条件下においては、非晶質原薬の結晶化開始時間が化合物種に依存しないことを見出した。その結果、25℃で3年間の物理安定性を担保するためには、原薬のガラス転移温度が48℃以上であれば良いことが分かった。実際の製剤にはさらに表面効果などが加わるが、非晶質製剤の物理安定性が簡便に予測できる可能性が示された。

A. 研究目的

90年代から急速に増加した難水溶性開発候補化合物に対応すべく、消化管内における溶解プロセスを補助する製剤が近年盛んに開発されてきた¹⁾。自己乳化型製剤に代表される溶液型製剤は消化管内における溶解過程を完全に排除するものであり、製剤設計が比較的容易などの長所を有する。しかしながら、この種の製剤は投与量が大きくなりがちである。また水性媒体接触後にすぐに析出するなどの理由により、吸収促進効果が得られないことも多い。さらには安定性の問題によ

り、冷蔵保存を余儀なくされることもある。その一方で、非晶質状態やナノ結晶など、高エネルギー状態の固体を利用した製剤は錠剤やカプセルとしての製剤化が可能であり、投与量に問題が生じることは少ない。しかしその一方で、処方設計や製造の困難さ、さらには物理的・化学的安定性の低さなどの問題を伴う。

非晶質状態の製剤が難水溶性薬物の経口吸収性改善に有用であることは、半世紀以上前から認識されていたものの、その詳細なメ

カニズムは未だ明らかとされていない。しかしながら、溶解性試験において高い過飽和状態を長時間維持できる製剤ほど、経口吸収性改善に有効であることが認識され始めている¹⁾。さらには、長年にわたって過飽和と認識されてきた現状は、実際は溶質として溶解しているわけではなく、ナノ粒子が形成されていることが頻繁に報告されるようになってきている。非晶質製剤といえども、溶出試験は従来の発想で行われているのが現状である。しかしながら、溶解・吸収過程のメカニズムが従来の製剤とは大きく異なる可能性がある非晶質製剤を、従来の発想で評価することは、適切ではないかもしれない。本研究においては、非晶質製剤の溶出性と吸収性の関係を精査し、同等性評価ガイドライン構築のための基礎知見を蓄積する。

また非晶質製剤の溶出性は、長期間保存後に低下することがある。溶出性の低下に最も大きな影響を与える要因は、保存中における薬物の結晶化である。従って、薬物の結晶化挙動の予測は非晶質製剤の設計において極めて重要であるが、現状、結晶化挙動を予測する手法は存在しない¹⁾。物理的安定性を保証するための加速試験は不可能であり、このことは非晶質製剤の開発研究に長期間を要する原因となっている。本研究においては、非晶質製剤の結晶化予測法の構築も目的とする。

B. 研究方法

1. 材料

表 1 に、使用したモデル化合物の一覧を示す。オイドラギット L-100 およびポリビニルピロリドン (PVP、K12-17 相当、分子量約 1 万) はそれぞれ Rohm Pharma GmbH (Darmstadt, Germany) と Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA) より入手した。各種溶媒は通常入手できる最高純度のもを使用し、いずれの試薬も供給されたものをそのまま用いた。

2. 非晶質製剤の調製

非晶質製剤は、凍結乾燥法もしくはエレクトロスプレー (Electrospray Deposition, ESD) 法²⁻⁴⁾にて調製した。凍結乾燥法³⁾においては、各種薬物および添加剤を所定量含有した *t*-BuOH 溶液を -20°C で凍結したのち、常温にて一晩減圧乾燥することにより調製した。

ESD 法の装置の概略を図 1 に示す。1.5w/v% オイドラギット L-100 のエタノール溶液と、1w/v% の PVP および所定濃度の LPV, RTV を含むエタノール溶液を、それぞれシリンジポンプで同軸二重ノズルの外側 (*d* = 0.8 mm) と内側 (*d* = 0.4 mm) に供給した。両方の流速の合計を、1 mL/h とした。ノズルから 12 cm 離してアルミプレートを垂直に設置し、ノズルとプレートにそれぞれ +15 kV, -15 kV の直流電圧を印加することによって噴霧を行い、製剤

表 1. モデル化合物一覧

化合物	略称	分子量	融点 (°C)* ¹	ガラス転移温度 (°C)* ²	製造元
Acetaminophen	AAP	151.2	169	24	MP Biomedicals (Santa Ana, USA)
Chlorpropamide	CPA	276.7	122	16	Sigma-Aldrich (St. Louis, USA)
Lopinavir	LPV	628.8	94	63	LKT Laboratories (St. Paul, USA)
Loratadine	LTD	382.9	135	38	Tokyo Chemical Industry (Tokyo, Japan)
Nifedipine	NDP	346.3	173	46	Alexis Biochemicals (San Diego, USA)
Ritonavir	RTV	721.0	127	47	LKT Laboratories (St. Paul, USA)
Tolbutamide	TLB	270.3	128	5	Wako Pure Chemicals (Osaka, Japan)

¹ Peak-top temperature

² Onset temperature

をプレートから回収した。以上の操作は、乾燥窒素によって相対湿度を20%RH以下に制御した環境で行った。本手法により、簡便にコア-シェル型ナノ~マイクロ粒子を調製することができる。

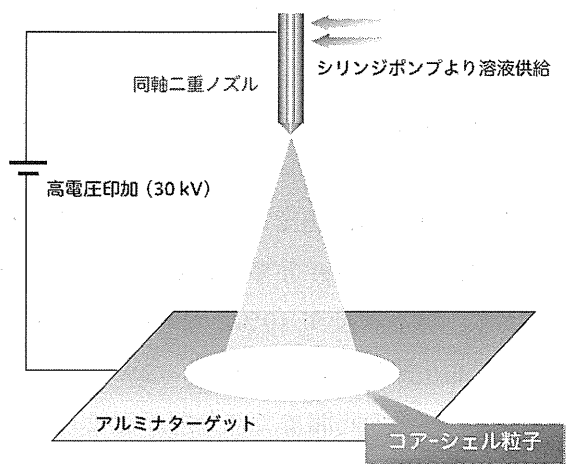


図1. ESD法による粒子調製の概略図。

3. 製剤の結晶性・結晶形評価

製剤の結晶性および結晶形は粉末X線回折 (XRPD, Rint Ultima, Rigaku Denki, Tokyo, Japan) にて、40 kV, 40mA で評価した。走査速度は $2^\circ/\text{min}$ とし、 0.02° 間隔でデータを収集した。また示差操作熱量測定 (DSC) も、評価に併用した。装置にはインジウムで校正された DSC Q2000 (TA Instrument, New Castle, USA) を用いた。

4. 溶出試験 (パドル法)

パドル法による溶出試験は、SR8 Plus (Hanson Research, Chatsworth, USA) にて行った。溶出液には 37°C の JP-2 液 500 mL を用い、LPV 換算で 2 mg (RTV 0.5 mg) の製剤を試験に供した。攪拌速度は 100 rpm とし、所定時間後に採取した溶液を孔径 $0.45\ \mu\text{m}$ のシリンジフィルタで濾過したのち、エタノール

で希釈し、HPLC (Shimadzu Prominence, Shimadzu, Kyoto, Japan) で定量した。カラムには YMC-Pack Pro C18 ($150\ \text{mm} \times 2.0\ \text{mmID}$, YMC, Kyoto, Japan)、移動相には水とアセトニトリルの 1:1 混液を用い、流速は $0.2\ \text{mL/h}$ 、注入量は $2\ \mu\text{L}$ とした。検出は 210 nm で行った。

5. 溶出試験 (フロースルーセル法)

フロースルーセル法による溶出試験は、Erweka 閉鎖ループシステム (Erweka, Heusenstamm, Germany) にて、直径 12 mm の溶出セルを用いて行った。製剤量は LPV 換算で 2 mg (RTV 0.5 mg) とし、約 2 g のガラスビーズ (直径 1 mm) 中に埋入して固定した。溶出液はセル出口で孔径 $0.7\ \mu\text{m}$ のガラスフィルタを通し、固体成分の流出を防いだ。溶出液には 37°C の JP-2 液 200 mL を用い、流速 $8\ \text{mL/min}$ とした。途中で pH を変化させる試験においては、試験開始後 1 時間までは JP-1 液 200 mL を用い、それに 3.5wt% NaOH + 0.5% $\text{KH}_2(\text{PO})_4$ 水溶液を 21 mL もしくは 30 mL 添加した。各々を添加した後の溶出液は、pH 5.5, 6.9 となった。溶出液の攪拌速度は 100 rpm とし、所定時間後に採取した溶液を孔径 $0.45\ \mu\text{m}$ シリンジフィルタで濾過し、HPLC で薬物濃度を定量した。また溶出液をそのままエタノールで希釈し、その後シリンジフィルタで濾過した検体も定量に供した。

6. 経口投与実験

ラットへの経口投与実験は、摂南大学にて倫理委員会の承諾を得て行った。24 時間絶食させた 7 週齢の SD ラットに、LPV 含量として $2\ \text{mg}/2\ \text{mL}/\text{kg}$ 投与した (RTV $0.5\ \text{mg}/2\ \text{mL}/\text{kg}$)。所定時間後に採取した血液 $0.6\ \text{mL}$ をヘパリ

ン処理後に 5,000rpm で 5 分間遠心分離し、得られた血清サンプルから薬物をアセトニトリルで抽出し、LC (ACQUITY UPLC, Waters, Milford, USA) - MS (ACQUITY TQD, Waters) にて定量した。移動相には 0.1%のギ酸およびアセトニトリル混液を用い、混合比を 98/2 から 95/5 に 1 分間で変化させ、その後 95/5 で 1 分間保持した。カラムには ACQUITY UPLC BEHC18 (50 mm × 2.1 mmID, 1.7 μm, Waters) を用い、流速 0.3 mL/h, 注入量 5 μL とした。

7. 非晶質原薬の物理安定性評価

各種原薬を約 3 mg ずつ DSC パンに秤量し、DSC で融点+10°Cまで加温後 50°C/min で急冷することによって、非晶質原薬を得た。そのまま様々な温度条件下にて乾燥状態で保管し、任意時間経過後に結晶性と結晶化度を評価した。AAP, CPA, TLB は加温過程における結晶化エンタルピーから結晶化度 X を求めた。すなわち、

$$X(\%) = 100 \left\{ \Delta H / \left(\Delta H_q - \int_T^{T_q} \Delta C_p \right) \right\} \quad (1)$$

ここで ΔH および ΔH_q はそれぞれ対象検体および完全に非晶質状態にある検体の結晶化エンタルピー、 T および T_q はそれらの結晶化温度、 ΔC_p は結晶と非晶質の比熱容量差である。NDP も昇温中に結晶化するが、直後に結晶転移ピークが重なるため、正確な結晶化エンタルピーを求めることができない。従って、以下の式より結晶化度を求めた。

$$X(\%) = 100(W - W_a) / \Delta W \quad (2)$$

ここで W と W_a は対象検体と完全に非晶質状

態にある検体の任意温度における熱流束、 ΔW は結晶と非晶質の熱流束差である。RTV と LTD は昇温中に結晶化しないため、融解エンタルピーの比較から結晶化度を求めた。

各薬物の結晶化挙動について以下の Avrami-Erofeev 式を用いてフィッティングし、各パラメータを求めた。

$$X(\%) = 100[1 - \exp\{-k(t - d)^n\}] \quad (3)$$

ここで k は結晶化速度定数、 t は時間、 d は導入時間、 n は Avrami 定数である。さらにこの式より、結晶化度が 10%となる時間 t_{10} を求め、結晶化開始の指標とした。なお各化合物について、この時間までに分解が起こらないことを確認した。

C. 研究結果と考察

1. ESD 製剤の設計と溶出性 (パドル法)

ESD 法を用いることによって、分散性に優れるナノ～マイクロ非晶質粒子が調製できることを、これまで我々は報告してきた²⁻⁴⁾。同軸二重ノズルを使用するとコア-シェル型粒子が調製できるが、シェル層として分散性に優れるオイドラギット L-100 を用いることが効果的である。以上の戦略により、難水溶性薬物であるグリセオフルビン²⁾、フェノフィブラート⁴⁾の経口吸収性向上が達成された。本研究では、RTV と LPV の合剤を検討した。いずれも CYP の基質であり、同時投与によって RTV は LPV の経口吸収性を改善することが知られている。この「ブースター効果」を利用して、既に製剤 (Kalettra[®]) も実用化に至っている。

RTV と LPV を PVP とともに内相に封入し、外相をオイドラギット L-100 として ESD 粒子

を調製したところ、いずれの薬物も再現性よく完全に非晶化することが、XRPD および DSC 測定より確認された。ESD プロセスにおいて、内相を形成させるための薬物溶液の供給速度と、外相を形成させるためのオイドラギット溶液の供給速度の比を、4/6 もしくは 2/8 として粒子を調製した。後者の方が、厚い腸溶性被膜を形成すると解釈できる。図 2 に、パドル法による JP-2 液を用いた溶出試験結果を示す。なお非晶質製剤の経口吸収性の予測にはシンク条件の溶出試験は望ましくないことが知られており、本試験もシンク条件ではない。LPV については溶解度以上の製剤量を用いており、溶出液が結晶溶解度に到達した場合には、溶出割合は 80% となる。しかしながら結晶の溶解は非常に遅く、2 時間経過後も 12% しか溶解しなかった。非晶質製剤はいずれも溶出性の改善を示したが、とくに ESD 製剤の溶出性は、凍結乾燥製剤と比較しても良好であった。さらに 4/6 製剤は 2/8 製剤より速やかに溶出したが、これは 4/6 製剤の方が、腸溶被膜が薄いためと解釈できる。ESD4/6 製剤からの LPV 溶出量は 81% に到達しており、ほぼ結晶の飽和溶解度に到達している。また、いずれにおいても RTV は LPV より早く溶出しているが、これは RTV の試験量が LPV の 1/4 であるためと考えられる（全量溶解が可能）。

2. 経口投与実験

各製剤をラットに経口投与したときの、血中薬物（LPV）濃度推移を図 3 に示す。結晶原薬を投与した場合には、ほとんど吸収は認められなかったが、非晶質製剤化によって顕著な吸収改善が認められた。ESD4/6 製剤が最も高い吸収率を与え、凍結乾燥製剤もほぼ同

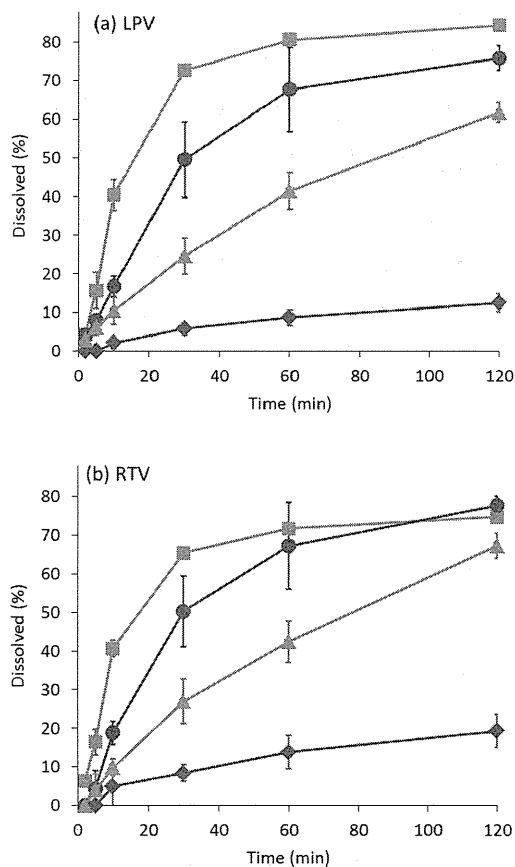


図 2. パドル法による溶出試験結果 (JP-2 液、37°C)。
 (■) ESD4/6、(●) ESD2/8、(▲) FD4/6、(◆) 結晶原薬。

等であった。これらの製剤からの吸収挙動には二峰性が認められた。ESD2/8 製剤からの吸収性は、他の二製剤より劣ることが分かった。

パドル法の溶出試験結果においては、ESD2/8 製剤の溶出性は、ESD4/6 製剤に次いで良好であった。動物実験において本製剤では吸収の二峰性が観察されないことから、その厚い腸溶性被膜のために、胃から腸への移行直後の薬物放出が抑えられることが原因と考えられた。すなわち ESD4/6 製剤と凍結乾燥製剤の投与後 30 分のピークは、比較的低 pH 環境下で放出が始まる LPV が吸収されるためと考えられた。JP-2 を用いた溶出試験では、腸溶性被膜は厚みにかかわらず容易に

溶解するため、動物実験の結果を説明するためには、低 pH 環境を通過する影響を評価する必要性が示唆された。一方、凍結乾燥製剤の溶出性は ESD 製剤より大きく抑えられていたものの、良好な経口吸収性が得られた。これは凍結乾燥製剤が粒子状ではないために、攪拌力が弱い溶出試験では凝集してしまうためと考えられた。

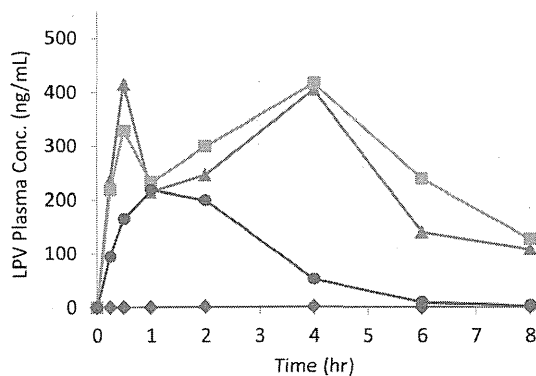


図 3. ラット経口投与後の LPV 血中濃度推移。記号は図 2 と同じ。

3. フロースルーセル法による溶出試験

溶媒の pH 変化に対する腸溶性被膜の影響を詳細に検討すべく、フロースルーセル法を採用した。まず、JP-2 液で溶出試験を行った結果を図 4 に示す。

LPV 濃度に注目すると、ESD2/8 の溶出性が ESD4/6 より僅かに優れ、一方で凍結乾燥製剤からの溶出性は非常に遅いことが分かった。また ESD 製剤について、シリンジフィルタ処理をしない場合は LPV 濃度が少し高くなることが分かった。全ての溶出セルと溶離液ベッセルの間には、孔径 0.7 μm のガラスフィルタが装着されているため、ここで検出されている薬物は、いちど溶解したものと考えて良い。従ってこの結果は溶出液中での薬物粒子の形成を示唆しており、実際に溶出液は若干

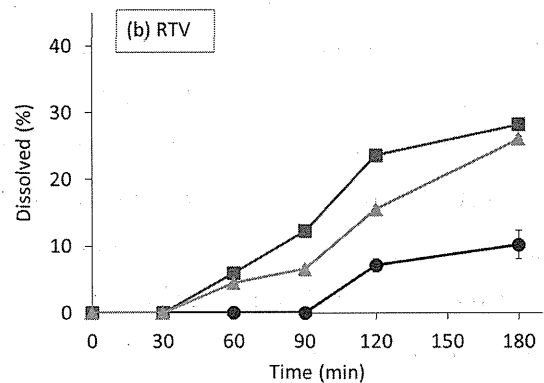
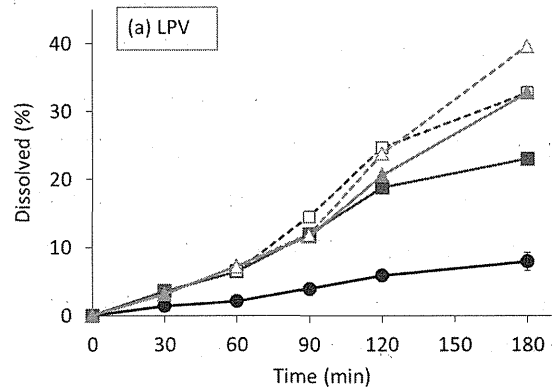


図 4. フロースルーセル法による溶出試験結果 (JP-2 液、37°C)。Closed symbol は溶出液をシリンジフィルタ処理してから定量した結果、Open symbol はシリンジフィルタ処理せずに定量した結果を示す。RTV においては、それらは一致したため、前者のみ示す。点線は Open symbol を繋いだもの。(■, □) ESD4/6、(▲, △) ESD2/8、(●) FD4/6。

白濁した。腸管における吸収速度が十分に速い薬物の場合は不溶解の前に吸収されると期待されるため、不溶化粒子も溶出量として評価することが好ましいと考えられる。飽和溶解度まで溶解した場合、溶出割合は約 30% となるが、それが 10% 程度に到達した頃には、既に薬物粒子の形成が示唆されている。従って薬物粒子の析出は、溶出液ベッセルに到達するより前に始まっているものと思われる。ESD 製剤と凍結乾燥製剤との間の溶出性の差

は、パドル法よりもさらに顕著となった。試験後の凍結乾燥製剤は塊状となっており、凝集性の高い製剤の評価はフロースルーセル法では工夫が必要と考えられる。

図5は、1時間後までJP-1液を用いて試験を行い、その後pHを中性に変化させたときの結果である。JP-1液の間は、LPVの溶出はほとんど起こらないが、RTVに関しては徐々に漏出が始まるのが分かった。LPVの溶解度はpH7で3 $\mu\text{g/mL}$ 、pH1で4 $\mu\text{g/mL}$ であるのに対し、RTVの溶解度はpH7では2 $\mu\text{g/mL}$ であるが、pH1では約100 $\mu\text{g/mL}$ まで大きく上昇する。従ってESD4/6製剤でとくに顕著であった漏出挙動は、被膜が薄くて不十分なためと思われた。pHシフト後は急激なLPVの溶出が認められたが、ESD2/8製剤で極めて迅速な溶出が起こり、しかも不溶粒子が多量に形成されていることが分かった。しかしながらラットの経口投与実験においてはESD4/6製剤の方が良好な経口吸収性を示したため、この結果はin vivoの効果とは一致しない。凍結乾燥製剤においては、JP-1液に曝すことによって凝集塊の形成がより促進され、中性への変換後の溶出性にも大きな影響を与えることが分かった。

製剤が胃から腸に移行する際にpHが速やかに中性に戻らない状況を想定し、JP-1液からpH5.5に変化する溶出試験を次に行った(図6)。ESD2/8製剤の溶出性は顕著に悪くなり、ESD4/6製剤のそれとの逆転現象が認められた。つまりラットの経口投与試験においては、胃から腸へ移行するときのpH変化の影響により、ESD2/8製剤からの初期溶出性が抑えられていると考えられる。これは血中LPV濃度推移において、投与後30分のピークがESD2/8製剤にのみ認められず、二峰性を

示さなくなることとも関連していると考えられる。

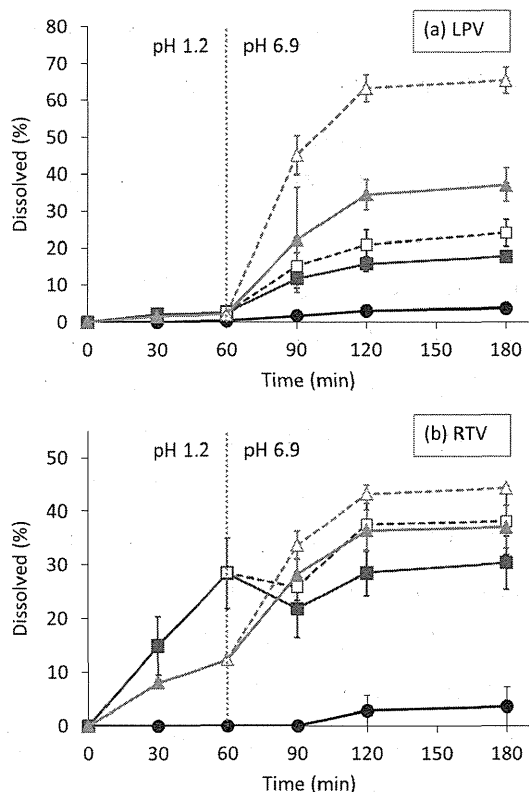


図5. フロースルーセル法による溶出試験結果 (37°C)。最初はJP-1液を用い、1時間後にpH6.9へ変化させた。記号は図4と同じ。

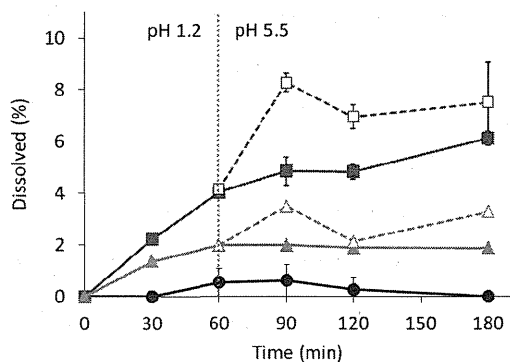


図6. フロースルーセル法によるLPVの溶出試験結果 (37°C)。最初はJP-1液を用い、1時間後にpH5.5へ変化させた。記号は図4と同じ。

4. 非晶質原薬の物理安定性評価

非晶質製剤の溶出性が保存中に変化することは決して稀ではなく、とくに原薬が一部結晶化すると、溶出性に多大な影響を及ぼす。非晶質製剤の結晶化は多くの因子に支配されているが、製剤設計にあたってはまず、原薬自身の結晶化挙動を把握しなければならない。

様々な医薬品原薬の結晶化挙動を Avrami-Erofeev 式で解析することによって得られた 10% 結晶化時間 t_{10} を、ガラス転移温度 T_g と保存温度 T の比の関数として図 7 に示す。フェノバルビタール (PBB)⁵⁾ とインドメタシン (IDM)⁶⁾ については、文献値を採用した。これらのうち AAP, NDP, CPA, PBB, TLB は、DSC で降温、昇温ストレスを与えると結晶化する薬物群であり、その結晶化は温度支配 (熱力学支配) と言える。これらの結晶化開始時間は、 T_g/T で整理すると一本の線に乗ることが分かった。IDM, RTV, LTD は結晶化に対するエネルギー障壁が大きく、上記のような温度ストレスでは結晶化しない、圧力支配 (速度論支配) の化合物群である。これらの結晶化開始時間は、温度支配の場合の結晶化時間よりも遅いことが分かった。医薬品原薬の結晶化時間は論文によってばらつきが大きいですが、本研究においては極めて表面積の小さいサンプルを乾燥条件下で保管しており、このように条件を慎重に制御することで、化合物種によらない一般則を見出すことに成功した。

図 7 の結果より、結晶化が温度依存の化合物については、ガラス転移温度のみから結晶化開始時間を予測することができる。図 8 は、5°C および 25°C の保存を仮定して、結晶化開始時間を求めたものである。これより、室温

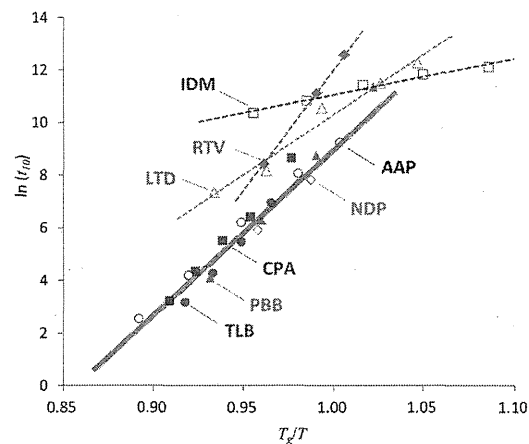


図 7. 医薬品原薬の 10% 結晶化時間 (t_{10}) と T_g/T の関係。PBB は文献 5、IDM は文献 6 のデータを採用。

で 3 年の安定性を担保したい場合には、原薬のガラス転移温度が 48°C 以上であれば良いことが分かる。冷蔵保存の場合は、26°C となる。圧力依存の化合物については、結晶化はこれよりさらに遅いと考えられる。ただし以上の計算は、原薬が慎重に制御された環境下での結晶化速度であることに留意しなければならない。結晶化は表面から進行する事例が多く報告されているため、粉体原薬の場合は結晶化が早まる可能性がある。さらには、水分の吸着はガラス転移温度を下げるために、これも結晶化を早める要因となる。一方、

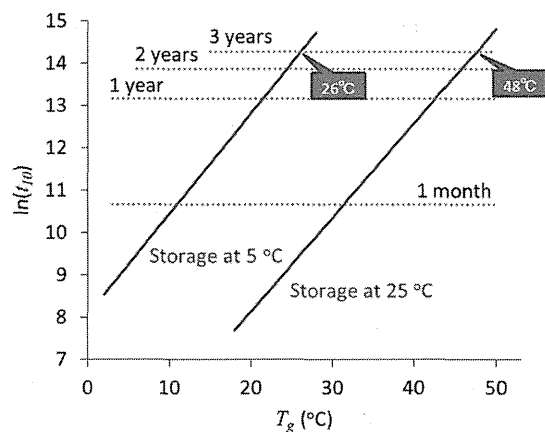


図 8. 医薬品原薬の 10% 結晶化時間 (t_{10}) と T_g の関係。

製剤化によって、結晶化時間は遅らせることが可能である。今後は以上の要素を加味して、結晶化時間を予測するための検討を進める。

D. 結論

難水溶性薬物に適用される過飽和型経口製剤の評価技術を高めるべく、その溶解過程の評価法および溶解に影響を与える物理安定性に関する検討を行った。RTV と LPV の腸溶性非晶質合剤を用いて、溶出試験とラットにおける経口吸収性の相関を評価したところ、フロースルーセル法の様々な有用性が見出された。本手法においては崩壊した原薬が溶出液に混入することはないが、溶出が速やかに起こる非晶質製剤の場合は、溶出液の中に不溶性粒子が生じることが分かった。これは過剰に溶解した薬物が不溶化したものと考えられ、従来の溶出試験の手順では無視される可能性が高いものである。フロースルーセル法においては、これも含めた評価を容易に行えることが分かった。また溶出途中で JP-1 液から中性条件へ変化させる実験も容易であり、腸溶性被膜を厚くすることによって経口吸収性が下がる現象の説明に成功した。

非晶質原薬を用いた結晶化速度評価においては、検体の表面積を小さくし、乾燥条件で保存することによって、結晶化開始時間の一般論を導くことに成功した。結晶化が温度依存の化合物については、結晶化開始時間は化合物種に依存せず、ガラス転移温度のみの関数となることが分かった。結晶化が圧力依存の化合物はさらに安定なため、いかなる化合物についても、ガラス転移温度から結晶化時間が予測できることが分かった。

E. 謝辞

動物実験は摂南大学薬学部・佐久間信至教授の研究室で行われたものであり、ここに謝意を表します。また本報告書には、日本学術振興会平成 25 年度科学研究費助成事業挑戦的萌芽研究（課題番号 25670016、研究代表者・摂南大学 佐久間信至）による成果も一部含まれます。

F. 参考文献

- 1) K. Kawakami. Adv. Drug Deliv. Rev. 2012, 64, 480-495.
- 2) S. Zhang, K. Kawakami, M. Yamamoto, Y. Masaoka, M. Kataoka, S. Yamashita, S. Sakuma, Mol. Pharmaceutics 8, 807-813 (2011).
- 3) K. Kawakami, Int. J. Pharm. 433, 71-78 (2012).
- 4) K. Kawakami, S. Zhang, R. S. Chauhan, N. Ishizuka, M. Yamamoto, Y. Masaoka, M. Kataoka, S. Yamashita, S. Sakuma, Int. J. Pharm. 450, 123-128 (2013).
- 5) Y. Aso, S. Yoshioka, S. Kojima. J. Pharm. Sci. 89, 408-416 (2000).
- 6) V. Andronis, G. Zografis. J. Non-Cryst. Solids 271, 236-248 (2000).

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) K. Kawakami, T. Harada, K. Miura, Y. Yoshihashi, E. Yonemochi, K. Terada, H. Moriyama, "Relationship between crystallization tendencies during cooling from melt and isothermal storage: Toward a general understanding of physical stability of pharmaceutical glasses"

submitted to Mol. Pharmaceutics (revised).

2) S. Sakuma, N. Ishizuka, S. Matsumoto, K. Kawakami, "Improvement of oral absorption of lopinavir by co-encapsulation of ritonavir into enteric-coated particles prepared by coaxial electrospray deposition" to be submitted.

2. 学会発表

1) K. Kawakami, "Crystallization Tendency of Pharmaceutical Glasses", The Fifth International Symposium on the New Frontiers of Thermal Studies of Materials (October 2013, Yokohama)

2) 川上亘作, 「非晶質原薬の物理安定性予測」第49回熱測定討論会 (2013年11月、船橋)

3) K. Kawakami, T. Harada, Y. Yoshihashi, E. Yonemochi, K. Terada, H. Moriyama, K. Miura, "General Understanding of Physical Stability of Pharmaceutical Glasses", 9th World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology (March 2014, Lisbon)

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

研究分担者 柴田 寛子 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨 長期徐放性注射製剤の後発医薬品に対して、FDA が提示している生物学的同等性を示すための推奨事項を製剤ごとにまとめ、設定目的や背景などを概説した。また Dissolution Methods Database に記載されている長期徐放性注射製剤の in vitro 放出試験の方法をまとめた。

A. 研究目的

長期徐放性注射製剤には油性注射剤や懸濁注射剤の他、特殊な製剤技術を駆使することでさらに長期間の徐放を可能としたマイクロスフェア製剤やインプラント製剤がある。市販されているマイクロスフェア(MS)製剤は8製品、インプラント製品は2製品で、我が国においても、それぞれ4製品と1製品が承認されている(表1)。長期徐放性製剤は投与回数を減らせるという利点があり、患者のアドヒアランス向上が期待されるため、特にがんや精神科領域で重要な製剤になりつつある。

数年前から米国 FDA では個別の製剤に対する生物学的同等性試験の推奨事項を公表している。米国では長期徐放性製剤のうちマイクロスフェア製剤は6製品が市販され、Nutropin Depot[®]を除く5製品に対して個別のガイドラインが公表されている。我が国においては、リュープロレリン酢酸塩のMS製剤であるリュープリン[®]の後発医薬品が2013年12に薬価収載され、2014年2月に2社から販売された。今後、他の長期徐放性製剤やさらに複雑な製剤の後発医薬品が開発される可能性もあり、製剤機能や構造が複雑な製剤に対して適切な生物学的同等性試験のあり方や in vitro 評価法を検討する上で、FDA の方策を整理しておくのは有用と考えられる。本報告書では FDA が提示している推奨事項を製剤ごとにまとめ、設定目的や背景などを概説した。また Dissolution Methods Database に記載されている長期徐放性注射製剤の溶出(放出)試験の方法をまとめた。

B. 研究方法

FDA のホームページに公開されている以下の文書、およびデータベースを対象に調査した。その他、各製剤の添付文書及びインタビューフォームを参考にした。

・Draft Guidance on Triptorelin Pamoate (UCM090738), Draft Guidance on Leprolide Acetate (UCM212614, UCM212615), Draft Guidance on Risperidone (UCM201272), Draft Guidance on Naltrexone (UCM179182), Draft Guidance on Octreotide Acetate (UCM240975)

・Dissolution Methods Database

<http://www.fda.gov/Drugs/InformationOnDrugs/ucm135742.htm>

C. 研究結果・考察

製剤ごとの推奨事項を表 2~7 にまとめた。Leuprolide Acetate の名称はリュープロレリン酢酸塩(JP16)とした。なお、FDA では後発医薬品の承認申請の際に比較対象となる医薬品を Reference Listed Drug (RLD)としているが、リュープロレリン酢酸塩封入MSの場合、5つ個別のRLDがあり、低含量の2製品(製品名 LUPRON DEPOT 3.5 mg, 7.5mg)と中枢性思春期早発症の適用で承認されている製品名 LUPRON DEPOT PED の3つのRLDはUCM212614の対象であり、前立腺がんの適用で承認されている高含量のLUPRON DEPOTと11.25 mg(3か月用)の製品はUCM212615の対象となっている。それぞれのガイダンスを表 3 (UCM212614) および表 4

(UCM212615)にまとめた。

In vivo 試験

共通して推奨されている試験は in vivo 試験(ヒトにおける薬物動態試験)で、統合失調症治療薬のリスペリドン封入 MS 製剤(表 5)とアルコール依存症治療薬のナルトレキソン封入 MS 製剤(表 6)には in vitro 薬物放出試験も推奨されている。

【被験者】通常の経口固形製剤では、健康成人を対象に in vivo 試験が実施されるが、進行性前立腺がん治療薬のトリプトレリンパモ酸封入 MS 製剤(表 2)とリュープロレリン封入 MS 製剤(表 3, 4)とでは、被験者は進行性前立腺がん患者となっている。また、リスペリドン封入 MS 製剤(表 5)においては被験者の条件が限定されており、既に一定期間長期徐放性リスペリドン製剤を投与されている患者を対象とし、健康成人や他の抗精神病薬の治療を受けている患者は推奨されていない。一方で、アルコール依存症治療薬のナルトレキソン封入 MS 製剤(表 6)と末端肥大症などに適用されるオクトレオチド封入 MS 製剤(表 7)の被験者には健康男子および非妊娠女性が推奨されている。長期徐放性製剤は通常の経口固形製剤よりも有効成分に暴露される期間が長く、また作用の強いものが多いため、対象となる被験者の設定には注意が必要と考えられる。

【試験計画】In vivo 試験計画は殆どが絶食時の単回投与、パラレル法であるが、リスペリドン封入 MS 製剤(表 5)だけ定常状態かつクロスオーバー法が推奨されている。長期徐放性製剤は試験期間が長く、休薬期間を含めると実施期間が非常に長くなるため、パラレル法が推奨されているものと考えられる。なお、公表されているリスペリドン封入 MS 製剤の単回投与時の血中濃度推移を見ると、投与後3週間程度は極めて低い濃度がつづき、投与後3~4週で濃度が上昇した後、4~6週で C_{max} に到達し、投与7週以降から低下し8週後には検出以下となる。他の MS 製剤の血中濃度推移は、投与後一過性に血中濃度が上昇した後、緩やかに減少しつつ一定の薬物濃度が数週間維持されることと比較すると、リスペリドン MS 製剤の血中濃度推移はかなり複雑であると言える。適応疾患が維持療法の必要な慢性精神疾患であること

と、複雑な血中濃度推移を示すことから、定常状態における薬物動態パラメーターの比較が推奨されているものと推察される。

【薬物動態パラメーター】分析対象は、全ての製剤で血漿中および血清中薬物濃度であった。ナルトレキソン封入 MS 製剤(表 6)以外は、算出すべき薬物動態パラメーターが提案されており、例えばリュープロレリン(表 3,4)やトリプトレリンパモ酸封入 MS(表 2)では通常の AUC_t 、 AUC_{∞} 及び C_{max} に加えて、投与後7日目から最終サンプリング時間までの AUC_{7-t} の算出が求められている。オクトレオチド封入 MS 製剤(表 7)も、投与開始から 28 日目までの AUC_{0-28} 、28 日目から 56 日目までの AUC_{28-56} の算出が推奨されている。FDA では 2010 年ごろから、ラグタイムやピークが複数あるなど血中濃度推移が複雑な製剤について、製剤間の差をより感度良く検出するための一つの方法として partial AUC の使用が提案されている。長期徐放性製剤にもこの考え方が取り入れられているものと考えられる。なお、少し違いはあるが、我が国で承認されたリュープロレリン封入 MS 製剤の後発医薬品についても、公表されているヒト試験のデータを見ると、 C_{max} と AUC_t の他、投与開始から 7 日目までの AUC_{0-7} 、7 日目から 28 日目までの AUC_{7-28} が比較されている。長期徐放性製剤の血中濃度推移について製剤間の差を比較する際には partial AUC が有効な場合が多いものと考えられる。

【in vivo 試験の免除申請】トリプトレリンパモ酸封入 MS 製剤(表 2)を除いて、含量が複数規格ある製剤には in vivo 試験の免除申請をするための条件が記載されている。対象となる含量の製剤について生物学的同等性試験結果が判定基準を満たすことその他、すべての含量の製剤について in vitro 溶出試験が許容範囲にあること、製剤の構成比など、質的および量的にそれぞれ比較対象となる標準製剤と同等であることが求められている。

In vitro 試験

推奨されている試験に In vitro 放出試験が含まれていたのはリスペリドン封入 MS 製剤(表 5)とナルトレキソン封入 MS 製剤(表 6)だけであった。Dissolution Methods Database に示されている方法

に追加して実施し、Databaseの方法は安定性及び品質管理試験に用いることとなっている。両製剤で大きく異なる点は、推奨されている試験温度と算出するパラメーターである。

【試験温度】リスペリドン封入 MS 製剤では 37°C で 21 日、45°C で 8 日目までと試験温度が 2 つ設定されているのに対し、ナルトレキソン封入 MS 製剤では 37°C で 28 日目まで実施することになっている。リスペリドン封入 MS 製剤では放出率が 100% に到達するのに 37°C では約 50 日かかること、試験温度を 45°C に上げた加速条件においても 37°C と同様の放出プロファイルが得られ、同じメカニズムで放出されることから (Rawat et al, Int J Pharm 420 (2011) 198-205), 45°C が試験温度に採用されたものと考えられる。

【試験液】リスペリドンの試験液は pH 7.4 の水と書かれているだけで、より具体的な試験液の記述が求められる。ナルトレキシソンの試験液はリン酸緩衝生理食塩水に界面活性剤 tween20 と防腐剤としてアジ化ナトリウムを添加した pH 7.4 の溶液が指定され、浸透圧も記載されている。後述する Dissolution Methods Database の方法にも同様の試験液が記載されており、ナルトレキシソンの in vitro 薬物放出性には浸透圧が大きく影響することが伺える。

【パラメーター】リスペリドンではサンプリング時間における放出率の他、放出率 50% となる時間 $T_{50\%}$ の算出が推奨されている。放出率 50% となる時間をはさむ 2 点のサンプリング時間の線形補間から算出することになり、予備試験などから適切なサンプリング時間を設定する必要がある。一方、ナルトレキソンでは両製剤の放出プロファイルを比較するために改変 f_2 関数の使用が推奨されている。ひとつ前のサンプリング時間における標準製剤と試験製剤の平均放出率 X_i を $(R_i - T_i)$ から差し引いた値を二乗する点が、通常の f_2 関数と異なる点である。この改変 f_2 関数を使うと、全体的に 10% 程度まで試験製剤よりも放出率が高いもしくは低い傾向を示す場合は f_2 関数の値が大きくなるが、サンプリング時間ごとに傾向が異なる場合 (例えば 7 日目では試験製剤の方が高い放出率を示すが 14 日目では低いなど) は、平均放出率の差が小さくても通常の f_2 関数より値が低くなる。つまり、通常の

f_2 関数よりも、サンプリング時間における平均溶出率ではなく、放出プロファイルそのものが類似していることが求められている。

Dissolution Methods Database

Dissolution Methods Database に収載されていた in vitro 放出試験条件を表 8 にまとめた。ガイドライン本体は最近改訂したが、試験方法の内容には今のところ変更は無いようである。トリプトレリンパモ酸封入 MS 製剤を除き、USPIV フロースルーセル法を使って試験法を構築し、妥当な場合は USP II パドル法か他の適切な方法を使用することとなっている。ナルトレキソン封入 MS 製剤のガイドライン中の in vitro 試験ではプラスチックボトルにマイクロスフェアと試験液を入れて試験することになっており、安定性や品質管理にはフロースルーセル法を使った試験法が望ましいと考えられているようである。

トリプトレリンパモ酸封入 MS 製剤ではパドル法を使った試験条件が具体的に記載されている。添付文書に記載された溶解性には DMSO (660 mg/mL)、ピリジン (440 mg/ml)、水 (60 µg/mL) とある。水 500 mL には 30 mg 溶けることになるが、1 バイアル中に含まれるトリプトレリンパモ酸 (3.75, 11.5 および 22.5 mg) に対してシンク条件を満たすため、また試験期間を短くするため、試験液にメタノールが添加されているものと考えられる。試験中にメタノールと水の比率が変化する可能性があるものの、水に溶けにくい有効成分を封入したマイクロスフェア製剤の試験には有効な方法の一つと考えられる。

D. 結論

in vitro の生物学的同等性試験が必要だと判断される基準がどこにあるのかは不明であるが、製剤の特性によっては in vitro 薬物放出プロファイルが標準製剤と同等であることが生物学的さらには治療学的に同等であることを担保する上で重要と認識されていることが分かった。異なる 2 製剤の in vitro 放出プロファイルの類似および同等性をどのように保証するのが適切なのか、パラメーター ($T_{50\%}$, 改変 f_2 関数) だけでなく試験温度やサンプリング時間の設定等も含めて検討していく必要がある。