

acetonitrile containing TFA. The chromatograms of two commercially available recombinant monoclonal IgG2s (Fig. 3A) showed many peaks, and the number of separated peaks was more than twice that previously reported (a maximum of four partially separated peaks).<sup>6,7,10,11</sup>

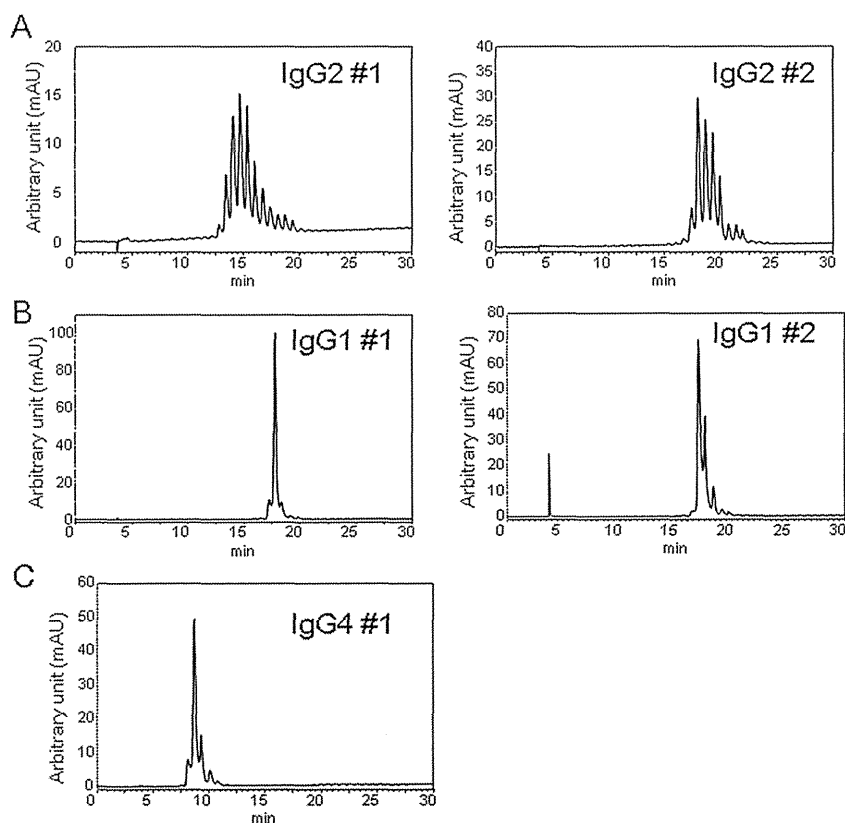
Under optimized conditions, the run-to-run repeatability of the IgG2 separation pattern was satisfactory (data not shown), and the day-to-day repeatability of the retention time of one of the main peaks was also good (relative standard deviation 0.9%). Therefore, the separation pattern of intact IgG can be expected to be useful for monitoring product consistency.

We also analyzed two commercially available IgG1s and one IgG4 under slightly modified separation conditions (the mobile phase gradient was optimized in each case). The chromatograms of IgG1s and IgG4 showed one major peak and a few minor peaks and were similar to chromatograms obtained by previously reported methods.<sup>7,11</sup> These results indicate that our method separated IgG2 isoforms more effectively than the other methods.

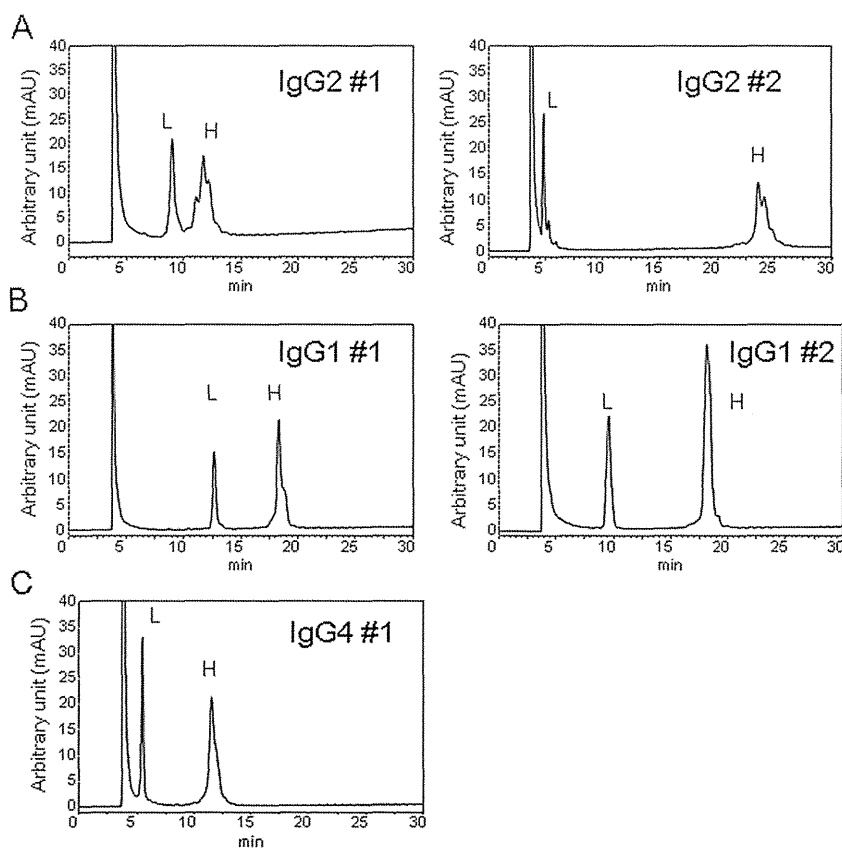
To date, three types of disulfide isoforms of IgG2 have been reported. To determine whether our method could separate only disulfide-mediated structural isoforms or whether other variants could be differentiated by our method, we applied it to the IgGs after they had been broken down into their heavy and light chains by reduction with dithiothreitol and subsequently

alkylation with iodoacetic acid. When we analyzed reduced and alkylated IgGs with the same chromatography system, the resulting chromatograms showed two sets of peaks, one set derived from the light chains and the other from the heavy chains (Fig. 4).<sup>10</sup> The light chains showed a single sharp peak, while the peaks derived from the heavy chains of both IgG2s were distributed inhomogeneously (Fig. 4A), and the distribution for the IgG2s differed from the distributions for the IgG1s and IgG4 (Fig. 4B and C). These results indicate that not only heterogeneity in disulfide bonding but also heterogeneity derived from other factors such as the charge or physicochemical properties of the heavy chain might have contributed to the separation obtained by means of our system. The observation of IgG2 charge variants during cation-exchange chromatography has been reported.<sup>10</sup> Further experiments such as mass spectrometry are needed to determine the mechanism by which members of the IgG2 subclass were separated.

In conclusion, the method we developed for HPLC on a column packed with 2  $\mu\text{m}$  nonporous ODS silica particles showed markedly improved separation of recombinant IgG2 isoforms with good repeatability. We suggest that the separation was based in part on recognition of disulfide-based structural isoforms but that other possible separation mechanisms might include heterogeneity in physicochemical properties such as the charge and intermediate of protein refolding. Our



**Fig. 3** Reversed-phase HPLC chromatograms of (A) IgG2s, (B) IgG1s, and (C) IgG4. Mobile phase linear gradients starting at 0 min and ending at 60 min: IgG2#1, 34% (0 min)–41% (60 min), IgG2#2, 32% (0 min)–43% (60 min), IgG1#1 and IgG1#2, 31% (0 min)–44% (60 min), IgG4#1, 33% (0 min)–42% (60 min); column temperature, 85 °C; sample concentration, 1 mg mL<sup>-1</sup>. The other conditions were the same as those described in the legend of Fig. 2.



**Fig. 4** Chromatograms of reduced forms of the IgGs whose chromatograms are shown in Fig. 3. The conditions for each IgG were the same as those described in the legend of Fig. 3. L, light chain; H, heavy chain.

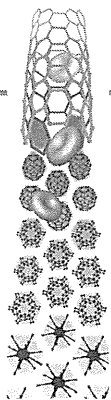
method can be expected to be useful for monitoring IgG isoform distributions, which is important for ensuring product consistency during the development and commercialization of therapeutic antibodies.

## Acknowledgements

The authors are grateful for financial support from the Program for Promotion of Fundamental Studies in Health Sciences of the National Institute of Biomedical Innovation (NIBIO) and Health Labor Sciences Research Grant from the Ministry of Health, Labour, and Welfare (MHLW).

## References

- 1 D. O. Beenhouwer, E. M. Yoo, C. W. Lai, M. A. Rocha and S. L. Morrison, *Infect. Immun.*, 2007, **75**, 1424–1435.
- 2 R. Jefferis, *Expert Opin. Biol. Ther.*, 2007, **7**, 1401–1413.
- 3 D. Burton, *Mol. Immunol.*, 1985, **22**, 161–206.
- 4 S. M. Canfield and S. L. Morrison, *J. Exp. Med.*, 1991, **173**, 1483–1491.
- 5 B. Frangione and C. Milstein, *J. Mol. Biol.*, 1968, **33**, 893–906.
- 6 J. Wypych, M. Li, A. Guo, Z. Zhang, T. Martinez, M. J. Allen, S. Fodor, D. N. Kelner, G. C. Flynn, Y. D. Liu, P. V. Bondarenko, M. S. Ricci, T. M. Dillon and A. Balland, *J. Biol. Chem.*, 2008, **283**, 16194–16205.
- 7 T. M. Dillon, M. S. Ricci, C. Vezina, G. C. Flynn, Y. D. Liu, D. S. Rehder, M. Plant, B. Henkle, Y. Li, S. Deechongkit, B. Varnum, J. Wypych, A. Balland and P. V. Bondarenko, *J. Biol. Chem.*, 2008, **283**, 16206–16215.
- 8 Y. D. Liu, X. Chen, J. Z. Enk, M. Plant, T. M. Dillon and G. C. Flynn, *J. Biol. Chem.*, 2008, **283**, 29266–29272.
- 9 T. M. Dillon, P. V. Bondarenko and M. Speed-Ricci, *J. Chromatogr., A*, 2004, **1053**, 299–305.
- 10 T. M. Dillon, P. V. Bondarenko, D. S. Rehder, G. D. Pipes, G. R. Kleemann and M. S. Ricci, *J. Chromatogr., A*, 2006, **1120**, 112–120.
- 11 Q. Wang, N. A. Lacher, B. K. Muralidhara, M. R. Schlittler, S. Aykent and C. W. Demarest, *J. Sep. Sci.*, 2010, **33**, 2671–2680.
- 12 C. Hovarth and H.-J. Lin, *J. Chromatogr.*, 1978, **149**, 43–70.
- 13 N. Wu, Y. Liu and M. L. Lee, *J. Chromatogr., A*, 2006, **1131**, 142–150.
- 14 Imtakt technical information no. T1605E <http://www.imtakt.com/TecInfo/TI605E.pdf>, cited 17 March 2012.
- 15 A. Koshiyama, T. Ichibangase, K. Moriya, K. Koike, I. Yazawa and K. Imai, *J. Chromatogr., A*, 2011, **1218**, 3447–3452.



For reprint orders, please contact: [reprints@futuremedicine.com](mailto:reprints@futuremedicine.com)

# Next-generation nanomedicines and nanosimilars: EU regulators' initiatives relating to the development and evaluation of nanomedicines

Over the last three decades many first-generation nanomedicines have successfully entered routine clinical use and it is now important for medicines regulatory agencies to consider the mechanisms needed to ensure safe introduction of 'follow-on' nanomedicine products, 'nanosimilars'. Moreover, drug regulators need to ensure that 'next'-generation nanomedicines enter clinical development and consequently the market in a safe and timely way for the benefit of public health. Here we review recent European Medicines Agency activities that relate to the effective development and evaluation of nanomedicine products while keeping patient and consumer safety at the forefront.

**KEYWORDS:** block copolymer micelle coating colloidal iron-based nanomedicine drug development liposomal formulation nanomedicine nanosimilar next-generation nanomedicine regulatory science

The European Medicines Agency is a decentralized agency responsible for the scientific evaluation of medicines developed by pharmaceutical companies for use in the EU. In 2006, a reflection paper (RP; for full definition of this and other key terms see Box 1) on nanotechnology-based medicinal products for human use noted that "nanomedicinal products may exhibit a complex mechanism of action combining mechanical, chemical, pharmacological and immunological properties," and that "additional specialized expertise may be required for the evaluation of the quality, safety, efficacy and risk management of such nanomedicinal products" [101].

Over recent years there has been ongoing, global, discussion regarding the appropriate evolution of regulatory guidance to meet the needs of nanomedicine-specific properties [1–3,102]. In order to provide appropriate regulatory guidance and assist researchers and companies interested in the development of nanomedicines for clinical applications, we review recent European Medicines Agency activities aimed at ensuring robust procedures are in place for the regulation of nanomedicines.

Nanomedicines are 'purpose designed', often using multiple components, and all have at least one dimension in the nanosize range. The rationale for their design includes improved drug delivery, for example, drug targeting (organ-specific, cell-specific or subcellular targeting), controlled and/or site-specific release, and improved drug transport across biological barriers (reviewed in [4]). Nanostructures are also being developed for external activation (e.g., thermal tumor ablation

and triggered drug release), as carriers of combination therapy, as imaging agents, as vaccine delivery systems and for regenerative medicine [4]. Often specific pathophysiological conditions are used to trigger pharmacological activity. To clarify the 'size range' that will define a product as a nanomedicine, it is important to note that in October 2011 the European Commission, assisted by its scientific committees, published recommendations on the definition of nanomaterial, predisposing size as the critical factor (1–100 nm) [103]. However, it was acknowledged that an upper limit of 100 nm is not scientifically justified across the whole range of nanomaterials, and the recommendation also noted the "special circumstances prevailing in the pharmaceutical sector", stating that the recommendation should "not prejudice the use of the term nano when defining certain pharmaceuticals and medical devices" [5].

## European Medicines Agency experience with nanomedicines

It is noteworthy that first-generation nanomedicines, including liposomal formulations, iron-based preparations and drug nanocrystal technologies in oral dosage forms, have been established as safe and effective for many years [2,4,6–8]. The European Medicines Agency has evaluated 11 marketing authorization applications for nanomedicines, out of which eight have been authorized and three have been withdrawn. The assessment reports are publicly available [104]. During the development of 12 nanomedicines scientific advice was requested from the European

Falk Ehmann\*<sup>1</sup>,  
Kumiko Sakai-Kato<sup>2</sup>,  
Ruth Duncan<sup>1</sup>, Dolores  
Hernán Pérez de la  
Ossa<sup>1</sup>, Ruben Pita<sup>1</sup>,  
Jean-Marc Vidal<sup>1</sup>,  
Ashish Kohli<sup>3</sup>,  
Laszlo Tothfalusi<sup>4</sup>,  
Alan Sanh<sup>4</sup>,  
Sandrine Tinton<sup>1</sup>,  
Jean-Louis Robert<sup>5</sup>,  
Beatriz Silva Lima<sup>6</sup>  
& Marisa Papaluca  
Amati<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Nanomedicines Drafting Group, European Medicines Agency, 7 Westferry Circus, Canary Wharf, London, E14 4HB, UK

<sup>2</sup>Ministry of Health, Labour & Welfare (MHLW), Tokyo 100-0013, Japan

<sup>3</sup>Medicines & Healthcare products Regulatory Agency (MHRA), 151 Buckingham Palace Road, Victoria, SW1W 9SZ, London, UK

<sup>4</sup>Agence Nationale de Sécurité du Médicament & des Produits de Santé, 143/147 boulevard Anatole France, F-93285 Saint-Denis Cedex, France

<sup>5</sup>Quality Working Party, European Medicines Agency, Westferry Circus, Canary Wharf, London, E14 4HB, UK

<sup>6</sup>Lisbon University – Faculty of Pharmacy (FMED.UL), Av das Forças Armadas, 1649-019 Lisbon, Portugal

<sup>7</sup>Scientific Support & Projects, European Medicines Agency, Westferry Circus, Canary Wharf, London, E14 4HB, UK

\*Author for correspondence:  
Tel.: +44 207 523 7310;  
[falk.ehmann@ema.europa.eu](mailto:falk.ehmann@ema.europa.eu)

**Box 1. Definitions of the key terms discussed.****Reflection paper**

- A reflection paper is developed to communicate the current status of discussions or to invite comment on a selected area of medicinal product development or a specific topic. It can provide a framework for discussion or clarification, particularly in areas where scientific knowledge is quickly evolving or experience is limited. A reflection paper does not provide direct scientific, technical or regulatory guidance, but may contribute to future development of such guidelines or related documents, as it provides clear statements on current expectations from the regulator. Therefore, it becomes possible for researchers to define the potential weak or controversial points and further clarify these with the regulators

**European Commission**

- Legal body responsible for the authorization of centralized medicinal products within the EU

**Marketing authorization applications**

- Submission and request for the authorization (licensing) of a medicinal product within the EU

**Bioequivalence**

- Bioequivalence is a term in pharmacokinetics used to assess the expected *in vivo* biological equivalence of two proprietary preparations of a drug. If two products are said to be bioequivalent it means that they would be expected to be, for all intents and purposes, the same

Medicines Agency to enhance the chances for a positive development outcome. Scientific advice is advice the European Medicines Agency gives to a company on the appropriate tests and studies in the development of a medicine. This is designed to facilitate the development and availability of high-quality, effective and acceptably safe medicines, for the benefit of patients. In addition, the European Commission has granted orphan status for ten nanomedicines under development. Approximately 48 nanomedicines and nanoimaging agents are currently under clinical development (Phase I–III) in Europe, with others progressing through earlier stages of drug discovery and nonclinical development. In addition, approximately 70 cancer clinical trials are ongoing in the USA involving nanomedicines [9] and, therefore, the number of marketed pharmaceuticals using nanotechnology is expected to continuously grow and, thus, benefit patients and public health.

### Regulatory challenges & perspectives

Particular challenges are becoming apparent in two distinct areas. First, in relation to the evaluation of those ‘follow-on’ nanomedicine products now beginning to arise as first-generation products come off patent. Such products are described here as ‘similar nanomedicines’ (i.e., ‘nanosimilars’), and they have recently become the subject of discussion [10]. These are new nanomedicines that are claimed to be ‘similar’ to a reference (originator/innovator) nanomedicine that has been granted a marketing authorization (licensing). In order to demonstrate similarity there is a need for stepwise comparability studies to

generate evidence substantiating the similar nature, in terms of quality, safety and efficacy, of the nanosimilar and the chosen reference (originator/innovator) nanomedicine. As nanomedicines differ significantly in their complexity and nature, a case-by-case or product class-specific approach for their evaluation might be necessary. It is important to stress here that any drug developed to be comparable to the reference patented drug (brand, originator or innovator) product must demonstrate equivalence in terms of quality, safety and efficacy before a market authorization can be granted. Given the degree of complexity of many nanomedicine products, special scientific considerations may be needed to ensure this equivalence of performance.

Second, it is becoming clear that recent advances in nanoscience are bringing novel opportunities to master matter at nanoscale sizes and this is leading to the creation of even more complex, hybrid structures by both new top-down fabrication and bottom-up manufacturing techniques. This is paving the way for a wave of new pharmaceuticals, imaging agents and combination products (hereafter they are termed ‘next-generation’ nanomedicines [4]) that require regulatory consideration prior to approval of first-in-man studies and for market authorization.

Individual nanomedicines may present particular challenges during their development and regulatory evaluation. Robust methodology is essential to ensure long-term safety/risk management, and specific tools may be needed (on a product-by-product basis) to ensure adequate product characterization and manufacturing control, and to define those critical product attributes that determine pharmacokinetics (PK),

body distribution, nonclinical safety and enable pharmacological proof of concept. Determination of stability *in vitro* and *in vivo* might be needed as well as an in depth understanding of physicochemical functionality of the nanosystem at its surface.

Specific safety issues relating to novel nanomaterials have been widely reviewed [11,12]. Definition of nanomedicine safety is distinct from the broader issues relating to nanomaterial toxicology as the product is designed for use at a specific dose, with a specific route and frequency of administration, and in the context of a specific clinical setting/patient population [13]. Safety and efficacy must be established under these conditions as well as the environmental impact of all medicinal products [13,14]. The biointerface can be very important in determining the safety profile of nanomedicines, and may influence PK and tissue/cell distribution. The nature and stability of surface properties/coatings in the final nanomedicine product can be very important in determining safety and efficacy. Thus, the need for sensitive and accurate analytical methods to identify and quantify the nanomedicine as a whole and all of its component parts in the final drug product, as well the biological environments it is likely to encounter during the proposed clinical setting is considered critical. Nonclinical studies to define the biodistribution and metabolic fate of nanomedicines/nanomaterials with respect to their acute and long-term safety, and immunological properties can be challenging. The rationale for selection of the dose and administration schedule that is used to assess long-term safety needs careful consideration in preclinical safety studies, before first-in-man clinical studies and during clinical development.

With these issues in mind, and in order to assess potential needs for regulatory requirements for the evaluation and assessment of nanomedicines, in 2006, the European Medicines Agency created a cross-agency Nanomedicine Expert Group. In 2009, this was further expanded via establishment of the International Regulators Subgroup on Nanomedicines, an initiative jointly launched by the medical regulatory agencies of the EU (European Medicines Agency), USA (US FDA), Japan (Ministry of Health, Labour and Welfare) and Canada (Health Canada). Experts gathered from this group (with the aid of close collaboration with European and International experts) organized the First International Workshop on Nanomedicines, which took place in London in September 2010 [105]. More than 200 participants representing 27 countries (including Australia,

Canada, India, Japan and USA) attended the meeting. The aims of the workshop were to share global experience (academic, industrial and regulatory), review existing and emerging nanomedicines, and discuss specific scientific issues relating to characterization, biodistribution and interactions of nanomedicines with biological systems. An ongoing goal is early identification of gaps in scientific knowledge and to prepare for the evaluation of future nanomedicines. To quote Patrick Le Courtois, Head of Unit: Human Medicines Development and Evaluation at the European Medicines Agency (London, UK), "preparedness is essential for enabling timely introduction of safe and efficacious nanomedicines of a high quality, as nanotechnologies bring not only opportunities to improve current treatments but also the potential to change the way we approach healthcare and diseases" [106]. Early and interactive communication between regulators and all stakeholders is also required to establish the trust that avoids risks misperception in this new field. Here we review recent European Medicines Agency initiatives aimed at enabling dialog and guidance regarding the safe development and clinical use of first- and next-generation nanomedicine products.

### Recent steps towards guidance for the development & evaluation of nanomedicines

To bring together regulatory experience with first-generation nanomedicines the European Medicines Agency's main Scientific Committee for Human Medicinal Products established a multidisciplinary expert group on nanomedicines in 2011. The remit of the expert group is to provide scientific input for well-founded Scientific Advice, collate the current regulatory reflection for the safe approval of nanosimilar nanomedicines, and to monitor the uptake of technical advances in the development and evaluation of upcoming new nanomedicines, for example, innovative block copolymer micelle products that are being developed as nanomedicines to assist targeted drug delivery and control drug release [15]. A series of RPs has been drafted on principles for the development and evaluation of nanosimilars developed with reference to first-generation nanomedicines and the principles to be considered when generating supporting evidence to changes made to the manufacture and control of these products [107,108], and principles for the development and evaluation of emerging nanomedicines (second-generation nanomedicines) progressing towards first-in-man studies [109].

**European Medicines Agency RP: intravenous liposomal products developed with reference to an innovator product**

Liposomes have been classically described as artificially prepared lipid-based vesicles composed of one or more lipid bilayers enclosing one or more aqueous compartments. They include mono- and multi-lamellar liposomes, and some formulations benefit from the addition of sterols (e.g., cholesterol), size reduction and surface modification with covalently linked polymers, for example, PEG. They are related to other lipidic drug complexes. Typically active substance(s) are entrapped in the aqueous phase of a liposome, or by incorporation or binding to the lipid components. The early goals for design of parenteral liposomal products was generation of drug delivery systems to improve solubility of entrapped components, for disease-specific targeting, to control drug release rates and/or to produce a pharmaceutical formulation suitable for clinical use via reducing unacceptable toxicity [6,16,17].

During the development of first parenteral liposomal products, a number of physico-chemical properties were identified as critical determinants of *in vivo* behavior. For example, particle size, membrane fluidity, surface charge and composition. Such characteristics are particularly sensitive to the manufacturing process, alterations can influence rapid recognition and removal by the monocyte-phagocyte system after intravenous administration and premature drug release (instability). Experience with liposomal formulations developed with reference to an innovator is still very limited, so the general principles relating to the pharmaceutical quality, and nonclinical and clinical principles for the assessment of liposomal products were developed with reference to an innovator liposomal product via a RP [107]. Data requirements after changes to an authorized liposomal product in support of comparative safety and efficacy are also discussed in the RP [107]. The draft RP concluded that differences in liposome characteristics might not be detectable by conventional bioequivalence testing alone, and additional studies are needed. A regulatory approach similar to the one established for similar biological medicinal products (biosimilars) that requires the stepwise comparability approach for quality, safety and efficacy between the reference biological medicinal product and the biosimilar is considered [110]; highlighting that differences between the product claimed to be similar (follow-on) and authorized reference medicinal product with regard to manufacturing

process steps and formulation may substantially modify efficacy/safety.

**European Medicines Agency RP: nanosized colloidal iron-based preparations developed with reference to an innovator product (reference medicinal product)**

Nanosized colloidal intravenous iron-based preparations were first used in humans in the 1930s, and since then they have been widely used to treat iron-deficiency anemia [7,18]. They are viewed as first-generation nanomedicines, and iron-based preparations have also been developed as diagnostics. These products have a complex structure comprising a polynuclear iron(III)-hydroxide core surrounded by modified carbohydrate polymer coatings, such as high- or low-molecular-weight dextran, gluconate, sucrose and carboxymaltose. It has been shown that all iron products can cause hypersensitivity or other reactions that can, in rare cases, be severe [19]. Another concern is the potential for release of free, unbound iron, which may produce both short-term and chronic toxic effects due to oxidative stress [20]. Thus, product characterization is required with respect to the labile iron present at the time of administration and the stability of the formulation in plasma. The PK (including biodistribution) and intracellular fate *in vivo* of these products are not fully understood and, thus, demonstration of similar plasma concentrations of iron will not necessarily correlate with therapeutic performance. With this in mind, differences in the production process or composition with reference to an innovator product may lead to diverse product characteristics that will impact on safety and therapeutic performance [108].

A RP currently under development discusses the principles for developing and assessing nanosimilar colloidal intravenous iron-based preparations designed as a treatment for iron deficiency anemia, developed with reference to a nanosized colloidal innovator product [108]. The overarching principle is that development of a specific product should take into account the critical product attributes of the innovator (reference medicinal product), and the evidence that supports its use when designing the quality, nonclinical and clinical development program. A particular challenge for these products is the scale of the clinical data required, which will depend on how accurately the physicochemical and non-clinical characterization can be used to predict differences that could influence the efficacy and safety of the product. Discussion between

the regulators and the scientific community is ongoing [21,22].

### Joint European Medicines Agency/Ministry of Health, Labour & Welfare Japan RP: block copolymer micelles

There has been significant interest in developing novel block copolymer micelles as nanomedicines to achieve improved delivery of poorly soluble, highly toxic and/or unstable drugs, to increase tissue targeting and/or to improve the efficiency of cytosolic delivery of macromolecular drugs [15,23,24]. Typically, such self-assembled micelles are prepared from amphiphilic AB block copolymers (although other chemistries are being proposed) that spontaneously assemble into polymeric micelles in aqueous media; hydrophobic interactions typically drive this self-association. However, other driving forces, such as electrostatic interactions, may be used to promote micelle formation and enhance micelle stability. The active substance component can be incorporated into the inner core of the block copolymer micelle product by chemical conjugation or physical entrapment. Functional features may also be added to the system by targeting molecule conjugation to the block copolymer, or by the addition of another homopolymer to stabilize the micelle or active substance, modify its release rate and/or increase its loading.

Innovative block copolymer micelle products have a carefully designed structure in which the inner core typically serves as a container for active substance component and this is surrounded by an outer shell of hydrophilic polymers. The chemistry of such block copolymer micelles may be designed to ensure high stability after dilution on administration due to a low critical association concentration (the concentration above which monomers spontaneously form micelles is called the critical association concentration), to optimize the PK (targeting), and to better control the drug release kinetics, both in terms of timelines and site. Thus, the dissociation of such block copolymer micelles may be kinetically slow. These properties are different from traditional surfactant micelles used to entrap/solubilize/aid the transport of drugs. Moreover, a block copolymer micelle product can contain multiple components within the core, including the active substance, which in certain cases may be covalently bound.

Nonclinical studies involving block copolymer micelles have demonstrated their potential to preferentially accumulate in solid tumors due to

microvascular hyperpermeability and impaired lymphatic drainage (known as the enhanced permeability and retention effect) [15]. The specific physicochemical properties of block copolymer micelles, such as size, surface-charge, composition and stability can be important determinants of safety and efficacy in all proposed applications. Several block copolymer micelle products containing anti-tumor agents as the active substance are currently in clinical development and block copolymer micelle products containing proteins are in preclinical development [23,24].

A joint RP between European and Japanese drug regulators discusses principles for the pharmaceutical development, and nonclinical and early clinical studies of block copolymer micelle nanomedicines (nanosystems created to affect PK, stability and distribution of incorporated or conjugated active substances *in vivo*). The active substance could be a low-molecular-weight chemical entity, nucleic acid, or a biological or biotechnologically derived entity (i.e., recombinant product), such as peptides and proteins. This RP has recently been released for public consultation, inviting comments by July 2013 [109].

### Nanomedicine surface coatings

Many nanomedicines approved as products and/or undergoing development include, as an integral component of their design, either a non-covalent or covalent coating. Such coatings have been typically used to minimize aggregation and improve stability (e.g., iron solutions for treatment of anemia), or in certain cases to minimize rapid clearance by the reticuloendothelial system after intravenous administration, thus, prolonging plasma circulation time (e.g., PEGylation). They have also been used to improve hemocompatibility and limit antigenicity. Both are phenomena that can arise due to the inherent physicochemical nature of the product or the surface adsorption of biomolecules from the physiological environment (e.g., plasma protein interaction) to which they are exposed. It is noted that the interface between a nanomedicine 'surface' and the biological environment will depend on the proposed clinical application, and the route of delivery, for example intravenous delivery into the blood plasma. Current research suggests that a much wider range of approaches to control the surface of nanomedicines will be employed in the future, and more sophisticated surface modifications designed to facilitate cell-specific targeting are already in clinical development [25]. Some of the



current issues that require consideration during the development and lifecycle of coated nanomedicines designed for parenteral administration are under discussion via a problem statement entitled Nanomedicines surface coatings: issues for consideration regarding parenteral administration [COMMITTEE FOR HUMAN MEDICINAL PRODUCTS. NANOMEDICINES SURFACE COATINGS: ISSUES FOR CONSIDERATION REGARDING PARENTERAL ADMINISTRATION (2013), MANUSCRIPT IN PREPARATION].

It is evident that the coating material is a critical determinant of the biological behavior of the product. The physicochemical nature of the coating, the uniformity of surface coverage, and the coating stability can all govern PK and bio-distribution and, thus, may potentially impact on product safety and efficacy. In addition, in some clinical studies involving certain coated nanomedicines, infusion-related reactions have been noted. It has been hypothesized that this may be mediated by biomolecular interactions, complement activation, the presence of circulating antibodies against the coating/product and/or cell surface receptor activation/binding. In some cases, the coating material itself may elicit new biological responses not observed for either the coating material or the unmodified nanocarrier alone. These observations underline the need for careful consideration of the impact of the coating material and the nature of its linkage (covalent or noncovalent). These factors will be critical in the determination of final physicochemical properties and the biological behavior of the product, with the potential to impact product safety and efficacy.

### Conclusion & future perspective

Many first-generation nanomedicines have been clinically established as successful medicines. Regulators are currently facing challenges for the development and evaluation of their nanosimilars, as well as those second-generation nanomedicines that are currently entering the

clinical development phase. The current regulatory framework is sufficiently robust to evaluate and authorize these pharmaceuticals as specific scientific expertise is involved and experts are consulted. By establishing expert groups, organizing international collaboration and convening stakeholders in public workshops, the European Medicines Agency continues to adapt and prepare the regulatory system for the development, evaluation and successful market entry of nanosimilars and second-generation nanomedicines for the benefit of patients.

### Disclaimer

*The views expressed in this article are the personal views of the authors and may not be understood or quoted as being made on behalf of or reflecting the position of the European Medicines Agency, the Ministry of Health, Labour and Welfare Japan, one of its committees or working parties, or the Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency.*

### Acknowledgements

*The authors would like to thank the members of the European Medicines Agency Nanomedicines Drafting group, C Bergquist, R Hawkins, B Patel, A Sundgren and R Thürmer, for their scientific support and contribution to the guidance drafted, the colleagues from Ministry of Health, Labour and Welfare, and the Ministry of Health, Labour and Welfare Nanomedicines Study Group members in Japan for their contribution to the reflection paper on block copolymer micelles.*

### Financial & competing interests disclosure

*The authors have no relevant affiliations or financial involvement with any organization or entity with a financial interest in or financial conflict with the subject matter or materials discussed in the manuscript. This includes employment, consultancies, honoraria, stock ownership or options, expert testimony, grants or patents received or pending, or royalties.*

*No writing assistance was utilized in the production of this manuscript.*

### Executive summary

- First-generation nanomedicines have been clinically established as successful medicines.
- The number of marketed pharmaceuticals using nanotechnology is expected to continuously grow and, thus, will benefit patients and public health.
- Drug regulators need to ensure:
  - The safe market introduction of nanosimilars (i.e., ‘follow-on’ nanomedicine products);
  - That next-/second-generation nanomedicines enter clinical development and, consequently, the market in a safe and timely way for the benefit of public health.
- Recent European Medicines Agency initiatives to facilitate the development of nanomedicines include:
  - Publication of a reflection paper on block copolymer micelles, liposomal products and nanosized colloidal iron-based preparations;
  - Organization of the first international workshop on Nanomedicine Regulation in collaboration with other agencies (e.g., US FDA and the regulatory authorities of Canada, Japan and Australia).



## References

Papers of special note have been highlighted as:

▀ of interest

▀▀ of considerable interest

- ▶1 Hamburg MA. FDA's approach to regulation of products of nanotechnology. *Science* 336(6079), 299–300 (2012).
- ▶2 Gaspar R. Regulatory issues surrounding nanomedicines: setting the scene for the next generation of nanopharmaceuticals. *Nanomedicine (Lond.)* 2(2), 143–147 (2007).
- ▶3 Tyner K, Sadrieh N. Considerations when submitting nanotherapeutics to FDA/CDER for regulatory review. *Methods Mol. Biol.* 697, 17–31 (2011).
- ▶4 Duncan R, Gaspar R. Nanomedicine(s) under the microscope. *Mol. Pharmaceutics* 8(6), 2101–2141 (2011).
- ▀▀ Comprehensive overview of state-of-the-art nanomedicines with lists of products in clinical use and development.
- 5 EU Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks. *Scientific Basis for the Definition of the Term 'Nanomaterial'*. European Commission, Brussels, Belgium (2010).
- ▶6 Soloman R, Gabizon AA. Clinical pharmacology of liposomal anthracyclines: focus on pegylated liposomal doxorubicin. *Clin. Lymphoma Myeloma* 8(1), 21–32 (2008).
- ▀▀ Comprehensive overview of the rationale for the design and clinical use of PEGylated liposomal doxorubicin.
- ▶7 Auerbach M, Ballard H. Clinical use of intravenous iron: administration, efficacy, and safety. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program* 2010, 338–347 (2010).
- ▀▀ Important overview of the history, pharmacology, administration, efficacy and toxicity of intravenous iron.
- ▶8 Junghanns JU, Müller RH. Nanocrystal technology, drug delivery and clinical applications. *Int. J. Nanomedicine* 3(3), 295–310 (2008).
- ▶9 Farrell D, Ptak K, Panaro NJ, Grodzinski P. Nanotechnology-based cancer therapeutics-promise and challenge-lessons learned through the NCI Alliance for Nanotechnology in Cancer. *Pharm. Res.* 28(2), 273–278 (2011).
- ▀ Discusses emerging anticancer nanomedicines and their development in clinical testing.
- ▶10 Schellekens H, Klinger E, Mühlebach S, Brin JF, Storm G, Crommelin DJ. The therapeutic equivalence of complex drugs. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 59(1), 176–183 (2011).
- ▶11 Nyström AM, Fadeel B. Safety assessment of nanomaterials: implications for nanomedicine. *J. Control. Release* 161(2), 403–408 (2012).
- ▶12 Fadeel B, Garcia-Bennett AE. Better safe than sorry: understanding the toxicological properties of inorganic nanoparticles manufactured for biomedical applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 62, 362–374 (2010).
- 13 Duncan R. Nanomedicine(s) and their regulation: an overview. In: *Safety Assessment of Nanomaterials: Implications for Nanomedicine*. Fadeel B (Ed.). Pan Stanford Publishing, Singapore (2013) (In Press).
- ▀ Discusses the regulation of nanomedicines and the important distinction between nanomedicine safety and nanomaterial toxicity.
- ▶14 Linkov I, Satterstrom K, Corey L. Nanotoxicology and nanomedicine: making hard decisions. *Nanomedicine* 4, 167–171 (2008).
- ▶15 Matsumura Y. Polymeric micellar delivery systems in oncology. *Jpn J. Clin. Oncol.* 38(12), 793–802 (2008).
- ▶16 Adler-Moore JP, Proffitt RT. Amphotericin B lipid preparations: what are the differences? *Clin. Microbiol. Infect.* 14(Suppl. 4), 25–36 (2008).
- ▶17 Barenholz Y. Doxil® – first FDA-approved nano-drug: lessons learned. *J. Control. Release* 60(2), 117–134 (2012).
- ▶18 MacDougall IC. Evolution of iv iron compounds over the last century. *J. Ren. Care* 35(Suppl. 2), 8–13 (2009).
- ▶19 Bishu K, Agarwal R. Acute injury with intravenous iron and concerns regarding long-term safety. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 1(Suppl. 1), S19–S23 (2006).
- ▶20 Garneata L. Intravenous iron, inflammation, and oxidative stress: is iron a friend or an enemy of uremic patients? *J. Ren. Nutr.* 18(1), 40–45 (2008).
- 21 Snodin D. EMA reflection paper on generic nanoparticle iron products: a case of bias by omission? In: *Script Regulatory Affairs*. Informa UK, London, UK (2011).
- 22 Lima BS. EMA responds to criticism of reflection paper on non-clinical studies for generic nano-particle iron medicinal product applications. In: *Script Regulatory Affairs*. Informa UK, London, UK (2011).
- ▶23 Karaoka K, Harada A, Nagasaki Y. Block copolymer micelles for drug delivery: design, characterization and biological significance. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 47(1), 113–131 (2012).
- ▶24 Oerlemans C, Bult W, Bos M, Storm G, Nijssen JF, Hennink WE. Polymeric micelles in anticancer therapy: targeting, imaging and triggered release. *Pharm. Res.* 27(12), 2569–2589 (2010).
- 25 Munster PN, Miller K, Krop IE *et al.* A Phase I study of MM-302, a HER2-targeted liposomal doxorubicin, in patients with advanced, HER2-positive (HER2+) breast cancer. Presented at: 2012 ASCO Annual Meeting. Chicago, IL, USA, 1–5 June 2012 (Abstract TPS663).

## Websites

- 101 European Medicines Agency. Reflection Paper on nanotechnology-based medicinal products for human use. [www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Regulatory\\_and\\_procedural\\_guideline/2010/01/WC500069728.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Regulatory_and_procedural_guideline/2010/01/WC500069728.pdf)
- 102 European Medicines Agency. A FDA perspective on nanomedicine current initiatives in the US. [www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Presentation/2010/09/WC500096201.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Presentation/2010/09/WC500096201.pdf)
- 103 Commission Recommendation of 18 October 2011 on the definition of nanomaterial. <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:275:0038:0040:EN:PDF>
- 104 European Medicines Agency. The European Medicines Agency publishes a full scientific assessment report called a European public assessment report (EPAR) for every medicine granted a central marketing authorisation by the European Commission. [www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/landing/epar\\_search.jsp&mid=Wc0b01ac058001d124](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/landing/epar_search.jsp&mid=Wc0b01ac058001d124)
- 105 European Medicines Agency. European Medicines Agency's workshop on nanomedicines. [www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/news\\_and\\_events/events/2009/12/event\\_detail\\_000095.jsp&mid=Wc0b01ac058004d5c3](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/news_and_events/events/2009/12/event_detail_000095.jsp&mid=Wc0b01ac058004d5c3)
- 106 European Medicines Agency. European Medicines Agency's workshop on nanomedicines. [www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/news\\_and\\_events/news/2010/09/news\\_detail\\_001108.jsp&mid=Wc0b01ac058004d5c1](http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/news_and_events/news/2010/09/news_detail_001108.jsp&mid=Wc0b01ac058004d5c1)

- 107 European Medicines Agency. Reflection paper on the data requirements for intravenous liposomal products developed with reference to an innovator liposomal product. [www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2013/03/WC500140351.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2013/03/WC500140351.pdf)
- 108 European Medicines Agency. Reflection paper on non-clinical studies for generic nanoparticle iron medicinal product applications. [www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2011/04/WC500105048.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2011/04/WC500105048.pdf)
- 109 European Medicines Agency. Joint MHLW/EMA reflection paper on the development of block copolymer micelle medicinal products. [www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2013/02/WC500138390.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2013/02/WC500138390.pdf)
- 110 European Medicines Agency. Guideline on similar biological medicinal products containing biotechnology-derived proteins as active substance: non-clinical and clinical issues. [www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/09/WC500003920.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003920.pdf)

## ブロック共重合体ミセル医薬品の評価<sup>\*13</sup>

加藤 くみ子<sup>\*1</sup>, 中西 健<sup>\*2</sup>, 小崎 雅人<sup>\*3</sup>, 松田 嘉弘<sup>\*4</sup>, 平野 舞<sup>\*4</sup>, 花田 博幸<sup>\*5</sup>, 久田 茂<sup>\*6</sup>,  
小野寺 博志<sup>\*4</sup>, 西山 伸宏<sup>\*7</sup>, 原島 秀吉<sup>\*8</sup>, 松村 保広<sup>\*9</sup>, 片岡 一則<sup>\*10,11</sup>, 奥田 晴宏<sup>\*12</sup>, 川西 徹<sup>\*12</sup>

### Evaluation of Block Copolymer Micelle Medicinal Products

Kumiko SAKAI-KATO<sup>\*1</sup>, Takeshi NAKANISHI<sup>\*2</sup>, Masato KOZAKI<sup>\*3</sup>, Yoshihiro MATSUDA<sup>\*4</sup>,  
Mai HIRANO<sup>\*4</sup>, Hiroyuki HANADA<sup>\*5</sup>, Shigeru HISADA<sup>\*6</sup>, Hiroshi ONODERA<sup>\*4</sup>,  
Nobuhiro NISHIYAMA<sup>\*7</sup>, Hideyoshi HARASHIMA<sup>\*8</sup>, Yasuhiro MATSUMURA<sup>\*9</sup>,  
Kazunori KATAOKA<sup>\*10,11</sup>, Haruhiro OKUDA<sup>\*12</sup>, Toru KAWANISHI<sup>\*12</sup>

#### 1. はじめに

ナノテクノロジー（超微細加工技術）を医薬品開発に用いる技術の進展が世界的規模で拡大しており、既に市販された医薬品も存在する。溶解性、生物学的利用能、代謝・クリアランス、又は生体内分布の改善による有効性の向上、更に副作用の軽減など、ナノテクノロジーによりもたらされる優れた特性を利用し、疾患の治療あるいは診断に有益な進歩がもたらし得ると期待されている。

例えば、ナノテクノロジーにより微細化された有効成分、医薬品添加物、又はこれらの組み合わせによる経口固形製剤では、マイクロメートルサイズの原薬結晶等からなる製

剤と比較し、単位質量当たりの表面積が飛躍的に増大し、溶解性の増加等の変化が認められる<sup>1)</sup>。また、ナノメートルサイズの大きさを有する静脈注射用製剤では、タンパク質や細胞との相互作用<sup>2)</sup>、更には組織や臓器における挙動が通常の低分子化学合成医薬品製剤とは異なったものとなる<sup>3)</sup>。更に、製剤表面を親水性の高分子で修飾したり、能動的な標的性を付与するための分子を結合したりする試みも積極的に取り入れられている。我が国においても、ブロック共重合体ミセル医薬品に代表される高機能な製剤の開発が世界に先駆けて進められている<sup>4,5)</sup>。

このようなナノメートルサイズに精密設計された製剤においては、ナノテクノロジーを中心とし、更に最新の材

<sup>\*1</sup> 国立医薬品食品衛生研究所薬品部 東京都世田谷区上用賀 1-18-1 (〒158-8501)

<sup>\*2</sup> 日本化薬株式会社医薬開発本部 東京都北区志茂 3-31-12 (〒115-8588)

<sup>\*3</sup> 興和株式会社富士研究所 静岡県富士市大野新田 332-1 (〒417-8650)

<sup>\*4</sup> 独立行政法人医薬品医療機器総合機構 東京都千代田区霞が関 3-3-2 (〒100-0013)

<sup>\*5</sup> ナノキャリア株式会社 東京都中央区日本橋 3-2-2 (〒103-0027)

<sup>\*6</sup> あすか製薬株式会社開発研究センター 神奈川県川崎市高津区下作延 5-36-1 (〒213-8522)

<sup>\*7</sup> 東京工業大学資源化学研究所 神奈川県横浜市緑区長津田町 4259 (〒226-8503)

<sup>\*8</sup> 北海道大学大学院薬学研究院 札幌市北区北 12 条西 6 丁目 (〒060-0812)

<sup>\*9</sup> 国立がん研究センター東病院 千葉県柏市柏の葉 6-5-1 (〒277-8577)

<sup>\*10</sup> 東京大学大学院工学系研究科 東京都文京区本郷 7-3-1 (〒113-8656)

<sup>\*11</sup> 東京大学大学院医学系研究科 東京都文京区本郷 7-3-1 (〒113-0033)

<sup>\*12</sup> 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)

<sup>\*13</sup> 本文書は、厚生労働省と欧州医薬品庁との共同リフレクション・ペーパー<sup>20)</sup>作成対応のため、厚生労働省の「ナノ医薬品に関する勉強会」において議論された内容のうち、リフレクション・ペーパーに記載されなかった内容を中心にまとめたものである。

料科学，高分子化学，タンパク質化学等の新技術が結集されて開発・製造されており，粒子サイズや表面物性等の物理的・化学的特性が，血中滞留性，有効成分の放出性などの *in vivo* における製品特性に直接影響する。しかし，物理的・化学的特性と *in vivo* における製品特性の関連性についてはまだ十分に解明されているとはいえない。したがってナノテクノロジーを応用した医薬品の開発，評価を適切に行う上での大きな課題の一つが，*in vivo* における製品特性に大きく影響する物理的・化学的特性を明らかにすることである。また，物理的・化学的特性，及び *in vivo* における製品特性を評価する手法を確立することも上記の関連性を明らかにする上で重要課題である。

そこで，本稿では，ブロック共重合体ミセル医薬品の特徴を概説し，その物理的・化学的特性や，*in vitro*，*in vivo* における製剤特性評価等の要点をまとめた。また，本稿で評価法の事例を挙げているが，これらの事例はあくまでも一例に過ぎず，製品の特性に応じ適切に選択すべきことを申し添える。

なお，本稿に記した内容は，筆者らの個人的見解であり，厚生労働省及び関連機関の見解等を示すものではない。

## 2. ブロック共重合体ミセル医薬品について<sup>4,5,6)</sup>

ブロック共重合体ミセルは，ポリエチレングリコール (PEG) などの親水性ポリマーとポリアミノ酸などの難溶性ポリマーが連結されたブロック共重合体の自己会合により形成されるナノ粒子である。化学的な設計によりブロック共重合体ミセルを構成する高分子鎖の解離速度を制御し，高い構造安定性，薬物動態・薬物放出制御が実現可能であることが知られている。ブロック共重合体ミセルは，内包された又はブロック共重合体に結合した有効成分の *in vivo* での薬物動態，安定性及び体内分布を調節するように創製されており，薬物の内包／可溶化／輸送促進を主目的として用いられた従来の界面活性剤型ミセルとは製剤化の目的，及び製造の原理や手法が多くの点で異なってい

る。

封入する有効成分がミセルの内核を形成する駆動力の一端を担っている点がブロック共重合体ミセルの特徴であり，*in vitro* や *in vivo* における安定性や，薬物放出を制御する要素となっている (Fig. 1)。ブロック共重合体ミセルへの有効成分の封入様式は，有効成分を物理的に内封する場合と，ブロック共重合体に有効成分を化学結合する場合に大きく分類される。物理的な内包型ミセルのミセル形成駆動力としては，静電的相互作用や疎水性相互作用等の分子間相互作用がある。一方，ブロック共重合体への有効成分の化学的結合としては，例えば共有結合，高分子-金属錯体形成等の分子内結合の形成が挙げられる。更に，核酸を封入した製剤では，ミセル形成後に化学的架橋が形成される等，各分類間を超えた複合型製剤の開発も進行中である。

有効成分については，低分子化学合成品の他，核酸，タンパク質，ペプチドなどを内包又はブロック共重合体に結合した製剤が開発中である。また，ブロック共重合体ミセルの外表面をリガンドや抗体等で修飾したミセルも開発中である。

## 3. ブロック共重合体ミセル医薬品の物理的・化学的特性，製造，及び品質管理に関わる留意点について

### 3.1 物理的・化学的特性について

ブロック共重合体の分子量は単一ではなく分布幅を有するため，平均分子量とともに多分散指数等を用い，製剤の品質や有効性・安全性を確保するための適切な分布幅を規定することが重要である。同様に，ブロック共重合体の自己会合により生成するミセルの粒子径も平均値及び多分散指数等で表現することが重要である。

一般にブロック共重合体ミセルに関する表面物性は，タンパク質や細胞との相互作用の観点から粒子径と同様，重要品質特性となり得る。例えば，形状，表面電荷(多くの

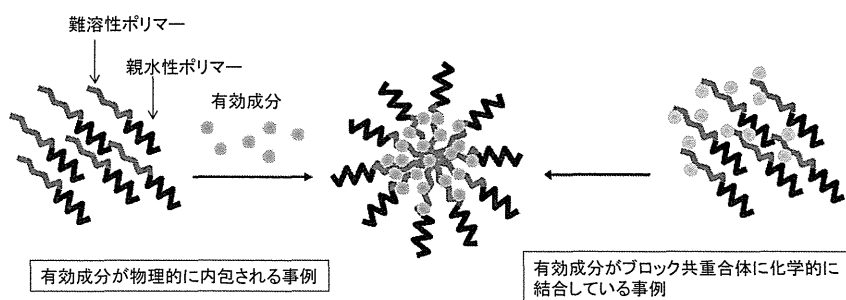


Fig. 1 有効成分を駆動力とするミセル形成の模式図

場合、ゼータ電位として測定される)、表面に結合させた標的性リガンド等が挙げられる。有効成分が外表面に存在している場合や、標的性を付与するための抗体等がミセル表面に結合した場合は、その特性解析を検討することも必要であろう。また、ブロック共重合体の化学構造だけでなく、ミセル形成時に内核に化学的架橋が導入される場合は、ミセルの分解過程を明らかにするためにその詳細な解析が重要となるであろう。ブロック共重合体、又はブロック共重合体ミセルに特有の物理的・化学的特性及び代表的な分析手法(試験法)を Table 1 に記す。

*in vivo* での安定性や薬物放出特性を反映する *in vitro* 解析も重要である。血漿を用いるのが、最も *in vivo* を反映した試験法といえるが、血漿中で測定できない場合は、アルブミンを含有した緩衝液など適切な「関連媒体」を用いることが必要であろう。*in vivo* における安定性については、別途記載する。

臨界会合濃度(cac)が比較的高い特定のブロック共重合体からなるミセルでは、解離後のポリマーがP糖タンパク質などのトランスポーターの機能に影響を与える事例が報告されており<sup>7)</sup>、内包した抗癌剤のP糖タンパク質輸送の阻害活性を指標に製剤設計がなされている例もある<sup>8)</sup>。一般に医薬品の“生物活性”とは、“特定の生物学的効果を発揮するための製品の特異的な機能やその程度”との意味合いで用いられるが、上述の例のようにポリマー自身が“臨床上の有効性や安全性に関わる生物活性”を有する場合、該当する生物活性については、品質の特性解析の一部として評価することが必要であろう。

### 3.2 製造工程及び工程管理における留意点

ブロック共重合体ミセルの製造工程は、ブロック共重合

体の合成、精製、単離、ミセル形成より概ね構成される。

ポリマーの精製方法としては、吸着樹脂、イオン交換樹脂、ゲルろ過、透析、限外ろ過などが挙げられる。精製の確認手段としては、サイズ排除クロマトグラフィー (SEC) を中心とする HPLC 法や質量分析法 (MS) などが用いられる。単離法、つまり固体として取り出す手法には、減圧乾固、凍結乾燥、沈殿、スプレードライなどがある。特に適切な溶媒を用いた沈殿法が頻用される。

ブロック共重合体が自発的にミセルを形成する場合には、ブロック共重合体の溶解工程と同義となることもある。また、ミセル化を促すために予備溶解後に高圧乳化する場合もある。ブロック共重合体は両親媒性の高分子であるため発泡しやすく、泡に高分子が溜まりやすい場合があるため、ミセル化工程においては、泡のコントロールに留意する必要があるだろう。

上述した通り、ブロック共重合体など合成中間体の分子量、ミセルの粒子径は多分散性を有し、最終製品のみ試験では製造工程や製品品質の一定性確保が不十分である場合もある。したがって、ICH Q8 や Q11 ガイドラインで推奨されている科学及び品質リスクマネジメントに基づく体系的な開発手法である QbD (Quality by Design) の原理に従い、中間体の分析や工程管理も含めた物性評価・品質管理が望ましいと考えられる<sup>9,10)</sup>。

### 3.3 開発段階における製法の変更

医薬品開発期間中に様々な新技術が開発、導入されることにより、品質の向上や製造コストの削減等のために製造方法の変更が行われることもある。また、開発の進行により製造スケールの変更が行われる場合もある。そのような場合、製法変更前後(製造方法変更、及び製造スケール変

Table 1 物理的・化学的特性に関する試験法の事例

物理的・化学的特性	試験法の事例
粒径及び粒径分布	動的光散乱 (DLS), 透過型電子顕微鏡 (TEM), 原子間力顕微鏡 (AFM), 小角 X 線散乱 (SAXS)
形態 (morphology)	TEM, AFM, SAXS
ゼータ電位	電気泳動光散乱 (レーザードップラー法)
会合数	静的光散乱 (SLS)
ナノ構造体の濃度依存性 (臨界ミセル濃度 (CMC), 臨界会合濃度 (CAC) など)	SLS, ビレンなどの蛍光色素を利用する方法, 表面張力, 粘度, 電気伝導率の測定
有効成分の物理的状態	示差走査熱量測定 (DSC), SAXS
ブロック共重合体の定量	分離: ゲル浸透クロマトグラフィー (GPC), フィールドフローフラクションシステム (FFF) 検出: 示差屈折率検出器 (RI), 蒸発光散乱検出器 (ELSD), 荷電化粒子検出器 (CAD)

DLS: Dynamic Light Scattering, TEM: Transmission Electron Microscope, AFM: Atomic Force Microscope, SLS: Static Light Scattering, DSC: Differential scanning calorimetry, SAXS: Small Angle X-ray Scattering, GPC: Gel Permeation Chromatography, FFF: Field Flow Fractionation, RI: Refractive Index, ELSD: Evaporative Light Scattering Detector, CAD: Charged Aerosol Detection

更)の製剤の品質、有効性、安全性が同等であることを保証するための検討が必要である。

高分子ミセル医薬品は、ブロック共重合体の精密設計により製剤開発がなされており、製剤学的に非常に複雑な構造を有する。また、血中濃度に加え、組織や臓器への分布、代謝、排泄を制御した製剤設計がなされている。したがって、通常の化学合成医薬品製剤における同等性評価と異なり、製法変更の程度や、変更の時期に応じて、理化学試験による比較の他、場合によっては非臨床試験、臨床試験による比較データが必要となる事例も想定され、変更前後の製品間の同等性/同質性(comparability: コンパラビリティ)評価の原則の適用を考慮することも必要となる。ここで、変更前後の製品間の同等性/同質性評価は、生物医薬品に関して考え出された概念であり、その原則はICH Q5E ガイドラインに記載されている<sup>11)</sup>。Q5E ガイドラインでは、comparable とは必ずしも変更前及び変更後の製品の品質特性が全く同じであることを意味するものではなく、「製造工程変更前後の製品が品質特性において高い類似性を有し、製剤の免疫原性を含む安全性、あるいは有効性に有害な影響が生じていないことをいう」と定義されている。現在欧米においては、先発リポソーム製剤を対象として開発されたリポソーム製剤の評価においても、この comparability の評価の考え方の導入が議論されている<sup>12,13)</sup>。

### 3.4 ブロック共重合体ミセルの安定性

ミセルの安定性には、実生産レベルのバッチ分析や安定性試験から推定される品質面での安定性と、*in vivo* におけるミセルの安定性がある。前者の安定性には、化学的安定性(例えば、ブロック共重合体の分解)と物理的安定性(例えば、ミセルの凝集)があり、これは、不純物、有効成分の内包率、ミセルの粒子径などの項目により評価することができるであろう。

一方、*in vivo* におけるミセルの安定性は、サイズや表面物性の制御により、排泄や細網内皮系による捕捉を抑制し十分な血中滞留性を保持することにより実現し、目的とする器官・組織への有効成分の効率的な到達を可能とする。具体的には、1) ミセルサイズを腎臓での糸球体濾過の閾値(分子量およそ 50 kDa)より大きくすること、2) 細網内皮系による捕捉を抑制するために親水性を有する PEG 鎖に生体適合性を付与させるとともに、ミセルサイズをおよそ 200 nm より小さくすること等である。特に、腫瘍組織では正常組織に比べ血管透過性が著しく亢進しているため、高分子や微粒子が血管から漏出しやすく、またリンパ系が発達していないため到達した物質が蓄積しやすいという効果(enhanced permeability and retention (EPR) 効果)<sup>14)</sup>により、ブロック共重合体ミセルは癌組織へ集積し

やすいことが示されている。更に、製剤設計においてブロック共重合体と有効成分との相互作用(凝集力)によりミセルの構造安定性の最適化がなされることにより、全身血中曝露後ただちに解離する可能性を回避できることもある。

このような *in vivo* でのミセルの安定性に影響を与える要素が、タンパク質や細胞との相互作用である<sup>15)</sup>。ブロック共重合体ミセルにおけるタンパク質や細胞との相互作用は、上述の通り、細網内皮系による取り込み、血中滞留性、ミセルの構造安定性(つまり有効成分の放出性)、標的細胞への取り込みなど、有効性や安全性に影響するため、*in vitro*、*in vivo* におけるタンパク質や細胞との相互作用評価は、重要品質特性の特定、ミセルの薬物動態や薬理作用を考察する上で重要である。具体的な評価法は個々のケースに応じて検討すべきであるが、具体例を Table 2 に示す。これらの事例はあくまでも例示に過ぎず、個別の製剤ごとに選択すべきである。更に、血中における遊離有効成分濃度と有効成分の総濃度、また組織あるいは臓器中における有効成分の総濃度に基づき、*in vivo* でのミセルの挙動を考察することも有効であると考えられる。また、3.1 で述べたように、*in vitro* における薬物放出試験も *in vivo* の安定性を評価する上で重要な情報を与える。

## 4. 非臨床試験

### 4.1 薬物動態

ブロック共重合体ミセル医薬品は、投与後の生体内動態を改善することを目的に製剤設計が行われる。言い換えれば、物理的・化学的特性のわずかな違いにより予期せぬ組織や臓器に分布する可能性もある。したがって、ヒトに投与する前に、非臨床試験において血中濃度はもとより、臓器や組織における薬物濃度を測定することが重要である。特に、安全性の観点から懸念される臓器の例としては、肝臓や脾臓、腎臓、肺、心臓など、細網内皮系やクリアランスと関連する重要な臓器、蓄積しやすい臓器、脳や精巣など血液組織関門により保護されている組織などが挙げられるであろう。

ブロック共重合体ミセル医薬品は、リポソームのようなベシクルタイプの製剤と異なり、内封型有効成分あるいは結合型有効成分と遊離の有効成分を明確に区別して測定することが難しく、多くの中間状態が存在する(Fig. 2)。したがって、血中では、遊離の有効成分濃度と総濃度、また臓器や組織中では総濃度を測定することが推奨される。有効成分を測定するためには、例えば採取した生体試料中の有効成分をゲル濾過や限外濾過法などで分離後、バッチ又はオンラインで検出する。検出手法は、有効成分の特性により、紫外可視吸光度計、蛍光分光光度計、誘導結合ブ

Table 2 タンパク質、細胞との相互作用に関連する評価法の事例

試験方法	説明
直接的な相互作用の試験 タンパク結合率, 血球分配率 <i>in vitro</i>	ブロック共重合体又はブロック共重合体ミセルと血液タンパク質との結合型, 非結合型の分離 (ゲル濾過法や平衡透析法などによる) が困難である場合や, ブロック共重合体の全血中濃度, 血漿中濃度測定が困難である場合も想定される. しかし, 低分子化学合成品で汎用されている手法等を利用し, ミセルのタンパク質結合率や血球分配率を求めることが可能であれば測定を行うことが好ましいと考える.
血液適合性試験 <i>in vitro</i>	溶血性試験 (ミセルと赤血球との相互作用) や, 血液凝固 (血漿成分への影響), 補体系への影響を調べる試験等がある.
ゲル電気泳動と質量分析法 <i>in vitro</i>	ブロック共重合体ミセルと相互作用するタンパク質を同定するための手法として有効である.
間接的な相互作用の試験 動的光散乱 <i>in vitro</i>	タンパク質との相互作用によるサイズの変化を追跡し, ミセルの構造安定性を知ることができる. ただし, 血液など多成分のタンパク質が混在する溶液中では, 一般的に適さない.
静的光散乱 <i>in vitro</i>	散乱光の角度分布を測定することによって, 粒子の大きさ, 分子量, 粒子の形状, 粒子間相互作用などについて情報を得ることが可能であるため, ミセルの構造安定性を知ることができる.
蛍光色素標識化 <i>in vitro</i> <i>in vivo</i>	ブロック共重合体や有効成分を蛍光標識化し, 消光現象や蛍光共鳴エネルギー移動現象を利用することにより, タンパク質や細胞との相互作用によるミセルの構造安定性を知ることができる. ただし, 蛍光色素による標識の安定性に留意する必要がある.
同位体標識化 主として <i>in vivo</i>	ブロック共重合体や有効成分を標識化し, その動態を追跡することにより, タンパク質や細胞との相互作用による動態への影響を考察することが可能となる. ただし, ミセルの構造安定性に関する情報を得る手法としては, 一般的には適さない.

ラズマ質量分析計 (ICP-MS) などを利用することができる. 注意すべきことは, 分離後の有効成分は, 多くの場合血中タンパク質からも遊離状態にある, という点である.

ブロック共重合体自身の代謝及び排泄経路は, 有効成分の動態に影響を与えるだけでなく, ブロック共重合体自身の安全性という点からも, 有益な情報を与える. しかし, 現在までに, *in vivo* の代謝メカニズムに関する報告はほとんどなく, 今後, 標識法の工夫などによりブロック共重合体の代謝に関する分析手法の開発が課題である. ブロック共重合体ミセル製剤と単独投与された有効成分において薬物動態を比較することにより, ブロック共重合体自身の動態や代謝を考察することは可能であるかもしれない. また, そのような比較試験は, 単独投与された有効成分よりもブロック共重合体ミセル化したほうが, 薬物動態が優れているとの主張を実証するのも役立つと思われる.

有効成分がミセル形成に主要な要因となっている場合, 有効成分の遊離に伴い内核の凝集力が低下していくことになる. 多くのブロック共重合体ミセルでは, 生理的条件下で有効成分を徐放するような設計になっていることから, 生体内に投与後, ミセルの形状は刻一刻, 変化している (Fig. 2). このような性質から, ある一定の条件下において *in vitro* の有効成分の遊離特性データは測定可能であるが, *in vivo* でミセルと解離したブロック共重合体を区別して詳細に測定することは困難な場合もある. そのような場合には, 可能な限り客観的なデータ (血中では, 遊離の有効成分濃度と有効成分の総濃度, また組織あるいは臓器中では有効成分の総濃度) に基づき, *in vivo* での挙動を考察す

ることが有益であろう.

生体内での安定性が向上したブロック共重合体ミセル医薬品は, 必ずしもミセル製剤化により内封薬物が投与直後に各組織に分布することはないため, サンプルング時間の計画を立てる際に考慮すべき要素として, 投与後の安定性や臓器/組織への局在に関するプロファイルに留意すべきである. 一般的に初期濃度, 例えば投与後 15 分以内など最初の分布相の測定データは, その測定値から分布容積を計算し, 循環血中におけるブロック共重合体ミセルの安定性を評価することができるため, 有益であると考えられる.

#### 4.2 非臨床薬力学

有効成分とミセルの *in vivo* での挙動を考慮し, 適切なモデルを用い, 異なる投与量において効力を裏付ける試験法を設定することが望まれる. 作用機構を考察するための試験を行うにあたっては, 有効成分の体内動態 (*in vivo* における有効成分の放出部位と放出速度), あるいはエンドサイトーシス又は他のシステムによる細胞内への取り込み後のミセル (ブロック共重合体又は他の安定化成分) の体内動態等を考慮して, 適切なモデルを用いるべきである.

ブロック共重合体ミセルの化学的な組成や内殻形成部の特性は, 有効成分の封入量や放出速度に影響する. ポリマー設計やリンカーの工夫により,

①細胞外で有効成分を遊離後, 遊離した有効成分が標的細胞に入る

②ブロック共重合体ミセルとして標的細胞に取り込ま



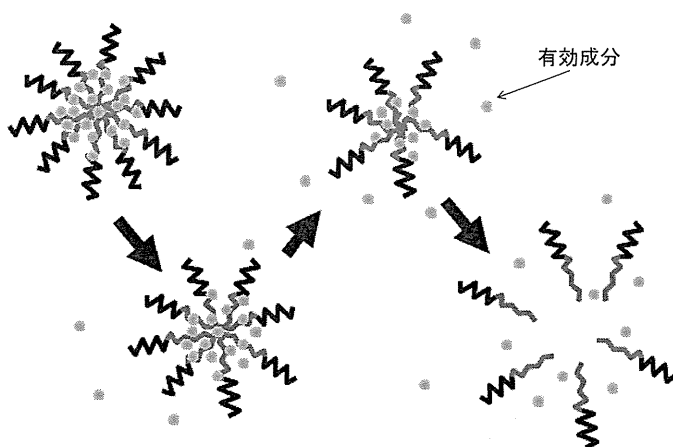


Fig.2 ミセル解離と有効成分遊離の模式図

れた後、有効成分を遊離する

③リンカーを介してポリマーに結合していた有効成分が標的細胞内で遊離する等の機序により有効成分が薬効を発揮すると考えられる<sup>16)</sup>。ただし、上記のどれか一つに限定されるというわけではない。できる限り、妥当な細胞、あるいは動物モデルを用い、イメージング手法(例えば、共焦点蛍光顕微鏡<sup>17)</sup>、陽電子放射断層撮影(PET))等の技術を利用し作用機序について考察することが重要であろう。

#### 4.3 非臨床安全性試験

ミセル製剤は、ブロック共重合体と有効成分間における結合様式により、便宜上、以下の三つに分けられるが、ミセルの安定性を高めるために、複数の結合様式が利用される事例も今後想定される。

①有効成分とポリマー部分が(分子内)化学結合を形成していない場合(例えば疎水の相互作用などがある)

②有効成分とポリマー部分との間がミセル形成後に(分子内)化学結合を形成する場合(例えば共有結合、高分子-金属錯体形成などがあるだろう)

③有効成分とポリマー部分が(分子内)化学結合を形成している場合(生体内では、ユニマーとしても存在する可能性がある)

ミセル製剤は、有効成分をミセル製剤化することにより有効成分の薬効の向上や毒性の低減を目的としているが、薬物動態が大きく変わることが多いので、毒性が既知の有効成分であっても、基本的にはミセル製剤を用いたフルパッケージの毒性試験が必要である。有効成分が抗悪性腫瘍薬の場合にはICH S9ガイドライン<sup>18)</sup>、バイオ医薬品の場合にはICH S6ガイドライン<sup>19)</sup>に従う。ただし、動物種の選定や試験デザイン等については、有効成分や投与経路

などで様々なケースが想定されるために、それぞれの条件に応じて柔軟に対応すべきである。

①、②の場合、製剤から有効成分を除いたポリマー部分単独(殻ミセル)の毒性評価は基本的に不要である。添加物としてのポリマー部分の安全性評価は、当該製剤に限定した承認とすることを前提として、製剤(ミセル全体)で評価を行うことでよい。ただし、ミセル製剤全体として適切な毒性評価ができない場合(例えば新規成分、蓄積性など)にはポリマー(殻ミセル)だけの毒性評価が求められる場合もある。

有効成分に新規性があり、毒性及びトキシコキネティクス(TK)データが得られていない場合には、前述のようにミセル製剤でのフルパッケージによる毒性/曝露評価を行う。有効成分がフリーの状態では生体内に存在する可能性がある場合は、動物を用いて臨床投与経路による反復投与毒性試験を実施して、毒性発現及びトキシコキネティクスをミセル製剤と比較することが必要な場合がある。

既に有効成分の毒性評価が終了している場合には、ミセル製剤での毒性評価は短期反復投与毒性試験により行い、臨床投与経路における毒性プロファイル及びトキシコキネティクス(TK)を有効成分のそれと比較する。毒性プロファイルが有効成分単独と異なるなど、短期反復投与毒性試験のみでは当該ミセル製剤の毒性が十分に評価できないと判断される場合には、必要に応じて追加の毒性試験を実施する。

一方、従来溶解性等の問題で、有効成分のみでは医薬品としての開発が困難であった有効成分を内封薬物としている場合や、有効成分のみで誘発される重篤な毒性がミセル化することで軽減されるような製剤開発の場合に、有効成分単独で毒性試験を行うことは困難である場合も想定される点を補足しておきたい。

## 5. ヒト初回投与試験において考慮すべき事項

本項では、通常製剤における配慮 (ICH ガイダンス及び国内ガイダンス) に加えて、ブロック共重合体ミセル医薬品において特に配慮すべきポイントに絞って、ヒト初回投与試験を検討する際に考慮すべき事項を記載する。

ブロック共重合体ミセル医薬品では、ミセル化により有効成分の生体内安定性、生体内分布が大きく変化する。したがって、ヒト初回投与試験までに、非臨床において血中の有効成分の濃度推移の他、標的病変部位と主要臓器への有効成分の分布に関する情報が必要である。

推奨されるヒトへの投与量の設定基準の決定にあたっては、薬理的な用量反応性、薬理的/毒性学的プロファイル及び薬物動態を含む、関連する全ての非臨床試験データを考慮する必要がある。しばしば静脈内投与で発生する輸注反応などの過敏症反応は用量依存性が無い場合が多いので、用量制限毒性として扱わないことが適切であろう。

一方、品質における留意点として、ヒト初回投与試験を開始するまでに品質特性に関する試験法をできるだけ確立させておくことが望ましい。有効成分含量、純度、無菌性の保証などの他に製剤ごとに重要品質特性の候補を決めておくことが必要であろう。例えば粒子径、有効成分の放出性、付与したリガンドの活性などである。

## 6. まとめ

本稿では、現在我が国において臨床応用が進められているブロック共重合体ミセル製剤について、製剤開発、及び製剤評価において考慮すべき点について考察した。今後、更に複雑な製剤設計による製品が開発されることが予想され、製品に応じた評価が必要になるであろう。品質・有効性・安全性を確保するために、製剤の物理的・化学的特性、及び製剤の *in vivo* における特性を理解し、ブロック共重合体ミセル製剤の特性に応じた *in vitro*, *in vivo* の試験が必要とされる。

今後、分析技術、評価手法の開発により、ブロック共重合体ミセルの物理的・化学的特性、製剤の *in vivo* における特性、及びこれらの関連性に関する更なる知識の蓄積が重要であると考えられる。

### 謝 辞

「ナノ医薬品に関する勉強会」における議論において、また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) により、多大なご支援を賜りました厚生労働省に深謝いたします。

## 文 献

- 1) Gao, L.; Liu, G.; Ma, J.; Wang, X.; Zhou, L.; Li, X. Drug nanocrystals: In vivo performances. *J. Control. Release.* 2012, 160, p.418-430.
- 2) Lynch, I.; Salvati, A.; Dawson, K.A. Protein-nanoparticle interactions: What does the cell see?, *Nat. Nanotechnol.* 2009, 4, p.546-547.
- 3) Harashima, H.; Iida, S.; Urakami, Y.; Tsuchihashi, M.; Kiwada, H. Optimization of antitumor effect of liposomally encapsulated doxorubicin based on simulations by pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling. *J. Control. Release.* 1999, 61, p.93-106.
- 4) Cabral, H.; Nishiyama, N.; Kataoka, K. Supramolecular nanodevices: from design validation to theranostic nanomedicine. *Acc. Chem. Res.* 2011, 44, p.999-1008.
- 5) 松村保広. がん治療におけるミセル製剤の臨床開発. *Drug Delivery System.* 2013, 28, p.215-220.
- 6) Nishiyama, N.; Kataoka, K. Current state, achievements, and future prospects of polymeric micelles as nanocarriers for drug and gene delivery. *Pharmacol. Ther.* 2006, 112, p.630-648.
- 7) Valle, J.W.; Armstrong, A.; Newman, C.; Alakhov, V.; Pietrzynski, G.; Brewer, J.; Campbell, S.; Corrie, P.; Rowinsky, E.K.; Ranson, M. A phase 2 study of SP1049C, doxorubicin in P-glycoprotein-targeting pluronics, in patients with advanced adenocarcinoma of the esophagus and gastroesophageal junction. *Invest. New Drugs.* 2011, 29, p.1029-1037.
- 8) Batrakova, E.V.; Li, S.; Alakhov, V.Y.; Miller, D.W.; Kabanov, A.V. Optimal structure requirements for pluronic block copolymers in modifying P-glycoprotein drug efflux transporter activity in bovine brain microvessel endothelial cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2003, 304, p.845-854.
- 9) 厚生労働省医薬食品局審査管理課長. ICHQ8 ガイドライン: 製剤開発に関するガイドラインの改定について (ICH Q8 (R2) ガイドライン). 薬食審査発第 0628 第 1 号, 平成 22 年 6 月 28 日.
- 10) ICH Q11 ガイドライン: Development and manufacture of drug substances (chemical entities and biotechnological/ biological entities). [http://www.pmda.go.jp/ich/q/step4\\_q11\\_e.pdf](http://www.pmda.go.jp/ich/q/step4_q11_e.pdf)
- 11) 厚生労働省医薬食品局審査管理課長. ICH Q5E ガイドライン: 生物薬品 (バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品) の製造工程の変更にもなう同等性/同質性評価について. 薬食審査発第 0426001 号, 平成 17 年 4 月 26 日.
- 12) Ehmman, F.; Sakai-Kato, K.; Duncan, R.; Hernán Pérez de la Ossa, D.; Pita, R.; Vidal, J.M.; Kohli, A.; Tothfalusi, L.; Sanh, A.; Tinton, S.; Robert, J.L.; Silva Lima, B.; Amati, M.P. Next-generation nanomedicines and nanosimilars: EU regulators' initiatives relating to the development and evaluation of nanomedicines. *Nanomedicine (Lond).* 2013, 8, p.849-856.
- 13) 加藤くみ子. ナノ医薬品開発に関する動向. 薬学雑誌. 2013, 133, p.43-51.
- 14) Matsumura, Y.; Maeda, H. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumorotropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs. *Cancer Res.* 1986, 46, p.6387-6392.

- 15) Kim, S.; Shi, Y.; Kim, J.Y.; Park, K.; Cheng, J.X. Overcoming the barriers in micellar drug delivery: loading efficiency, in vivo stability, and micelle-cell interaction. *Expert Opin. Drug Deliv.* 2010, 7, p.49-62.
- 16) Kataoka, K.; Kwon G. S.; Yokoyama, M.; Okano, T.; Sakurai, Y. Block copolymers micelles as vehicles for drug delivery. *J. Control. Release.* 1993, 24, p.119-132.
- 17) 野本貴大, 松本有, 藤加珠子, Christie, R.J., 宮田完二郎, 大庭誠, Cabral, H., 村上真美, 福島重人, 西山伸宏, 片岡一則. リアルタイム生体内共焦点レーザー顕微鏡を用いた drug delivery systems (DDS) の動態評価法. *薬学雑誌*, 2012, 132, p.1347-1354.
- 18) 厚生労働省医薬食品局審査管理課長. ICH S9 ガイドライン：抗悪性腫瘍薬の非臨床評価に関するガイドラインについて. *薬食審査発* 0604 第 1 号, 平成 22 年 6 月 4 日.
- 19) 厚生労働省医薬食品局審査管理課長. ICH S6 (R1) ガイドライン：バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価について. *薬食審査発* 0323 第 1 号, 平成 24 年 3 月 23 日.
- 20) ブロック共重合体ミセル医薬品の開発について厚生労働省／欧州医薬品庁の共同リフレクション・ペーパー (案). [http://www.nihs.go.jp/drug/section4/nanomedicine\\_j/nano\\_j.html](http://www.nihs.go.jp/drug/section4/nanomedicine_j/nano_j.html)

## 《コロキウム》

## DDS 製剤開発の活性化と実現に向けた取り組みについて

加 藤 くみ子\* Kumiko Sakai-Kato

国立医薬品食品衛生研究所薬品部

## 1. は じ め に

本年2月1日、「ブロック共重合体ミセル医薬品の開発について厚生労働省/欧州医薬品庁の共同リフレクション・ペーパー(案)」<sup>1)</sup>「Joint MHLW/EMA reflection paper on the development of block copolymer micelle medicinal products, Draft」<sup>2)</sup>が厚生労働省及び欧州医薬品庁(EMA)より発表された。本書は厚生労働省の検討会である「ナノ医薬品に関する勉強会」における議論をふまえ、欧州と共同で作成された。従って本活動は本邦初のナノ DDS 製剤開発に関する文書の作成であるだけでなく、本邦において開発が先行している革新的医薬品の開発における留意点及びその評価に関する国際発信・国際調和の促進と言えるであろう。本邦の DDS 製剤技術研究は世界的にも多くの関心が寄せられており、日本が先導して上述した規制に関わる文書を作成できたのもその表れであると考えている。本稿では、DDS 製剤開発の活性化と実現に向けた取り組みについてその一例を紹介したい。

## 2. DDS 製剤開発の活性化と実現に向けた取り組みについて

製剤あるいは原薬に工夫を凝らし、溶解性、生物学的利用能、生体内分布等の改善、副作用軽減を目

的とした製剤や、治療と診断など複数の機能を集積化した製品の開発が盛んに行われている。今後もさらに発展し医療のアプローチを根底から変え得る革新的医薬品の開発など、既存の知識では対応できない可能性も十分にあり、そのようなギャップを埋めるためにも新たな評価法の開発に資する更なる科学的研究が不可欠である。これらの活動を通して、開発に際して考慮が必要な要件をまとめる、さらに機能評価法を開発・標準化し、評価法ガイドライン案等を作成することが重要であり、先端的医薬品の臨床応用を早期に実現する上で大きな推進力になると考えられる。

本邦においては、ブロック共重合体ミセル、リポソームなどキャリアによる抗癌剤や核酸等の送達、医療機器との融合など世界的に見ても最先端の研究が盛んに行われている。これらの医薬品は、新規素材による最先端の技術を利用して開発されており、製品としての品質確保の基準が不明確である、また、循環血中に入ったのちも製剤が生体高分子と同等なナノメートルサイズの構成要素を有し、従来の低分子医薬品とは体内での挙動や生体との相互作用など様々に異なる、などの特徴が挙げられる。したがって体内での動態などナノ DDS 製剤の特性に配慮しその開発や評価に関して考慮すべき点を明確にしていくことが急務である。2008年に国立医薬品食品衛生研究所薬品部に新たな室が設立されこれらの課題に取り組んできた。一例としては、ブロック共重合体ミセル製剤やリポソーム製剤等のナノ DDS 製剤の体内動態に関わる品質特性評価法の開発研究が遂行されており、キャリア成分の動態を中心にナノ DDS 製剤の細胞内動態評価法、及び細胞内動態に関

\*1995年東京大学薬学部卒業、1997年東京大学大学院薬学系研究科修士課程修了、三共株式会社研究員、武蔵野大学助手、助教を経て、2008年より国立医薬品食品衛生研究所薬品部第四室室長。博士(薬学)(東京大学)。現在の研究:高機能性製剤の品質評価研究。連絡先:〒158-8501 東京都世田谷区上用賀 1-18-1  
E-mail: kumikato@nihs.go.jp

わる品質特性評価法の研究を推進してきた。現在は、ナノ DDS 製剤の物理的・化学的特性と動態との関連性、及びキャリア成分の動態が有効成分の動態や医薬品総体としての安全性へ及ぼす影響について研究を行っている。

一方、先端的医薬品の評価法開発に関わる研究推進のためには人材育成も重要である。厚生労働省では昨秋より「革新的医薬品・医療機器・再生医療製品実用化促進事業」が開始された。本事業は、アカデミア（大学・研究所等）が国立医薬品食品衛生研究所及び独立行政法人医薬品医療機器総合機構と連携・人材交流を行い、革新的医薬品・医療機器・再生医療製品の安全性と有効性の評価の確立に資する研究を実施することにより、新薬・新医療機器の審査・安全対策のガイドライン発信、及びレギュラトリーサイエンスの人材育成を目的としている。医薬品分野（全8課題）において、北海道大学大学院薬学研究院を中心に「がん、ナノテクノロジー」をテーマに研究が進行しているところである。このような国家プロジェクトに薬剤学が貢献できることは特筆すべきことであると思われる。

ナノテクノロジーを応用した医薬品の評価については、欧米規制当局においても議論が進んでいる。また EMA を中心とした規制側の専門家会議が開催されている。このような国際的な活動の中で、冒頭で紹介した EMA との共同リフレクション・ペーパー（案）が作成された。

2010年9月にはEMAの主催による「ナノメディシンに関する第1回国際ワークショップ」が開催された。この会議には欧州各国の他、米国、カナダ、日本、オーストラリアなど27カ国から産官学、さらに患者団体の代表等が出席し、1) 現在までにどのようなナノメディシンが実用化されてきたか、また開発中であるか、2) 医薬品への実用化に向け取

り組まれている先端技術、3) ナノメディシンの品質特性評価、非臨床評価、リスク管理（ヒト及び環境へのリスク評価）、4) ナノメディシンを用いることによる患者の利益と利益享受のための課題、など広範な内容が議論された。本国際ワークショップの開催は

- ・新たに現れつつある革新的な医薬品に関する情報を得る
- ・課題を明らかにする
- ・患者、市民社会のニーズを知る

等の成果を目指したものである<sup>3)</sup>。ナノテクノロジーに代表される高度な技術を利用した医薬品の開発環境整備には、開発段階からの科学的な対話、知識の共有が重要であると考えられる。

### 3. おわりに

本項で述べた様々な取り組みにより、本邦において本分野の研究開発が一層推進され、日本発の革新的医薬品の創出、医療水準の更なる向上がもたらされることを期待する。

最後に、関係の諸先生方、共同研究者の皆様、支援頂いた厚生労働省に感謝申し上げます。

### 引用文献

- 1) ブロック共重合体ミセル医薬品の開発について厚生労働省/欧州医薬品庁の共同リフレクション・ペーパー（案）。Available at <http://www.nihs.go.jp/drug/DrugDiv-J.html>
- 2) Joint MHLW/EMA reflection paper on the development of block copolymer micelle medicinal products, Draft. Available at <http://www.nihs.go.jp/drug/DrugDiv-J.html>
- 3) 1st International Workshop on Nanomedicines 2010 Summary Report, European Medicines Agency. Available at <http://www.nihs.go.jp/drug/DrugDiv-J.html>