

2021 年度 博士学位論文

製剤中の有効成分と水溶性高分子添加剤の同時定量法構築及び
ハイドロゲルマトリックス型モデル徐放錠からの薬物溶出機構の解析

京都薬科大学

木本 万里子

本論文は、以下の論文の内容を総括したものである。

- 1) Mariko Kimoto, Toshiyasu Sakane, Hidemasa Katsumi, Akira Yamamoto. Quick and simultaneous analysis of dissolved active pharmaceutical ingredients and formulation excipients from the dissolution test utilizing UHPLC and charged aerosol detector. *AAPS PharmSciTech* 2021, **22**, 262. [第 1 章、第 2 章]
- 2) Mariko Kimoto, Toshiyasu Sakane, Hidemasa Katsumi, Akira Yamamoto. Simultaneous determination of active pharmaceutical ingredients and water-soluble polymers: analysis of dissolution profiles from sustained-release formulations and mechanisms involved. *Chem. Pharm. Bull.* 2022, **70**, 138–145. [第 2 章]

目次

序論.....	1
本論.....	5
第 1 章 API 及び水溶性高分子添加剤の同時定量法の構築.....	5
第 1 節 API 及び水溶性高分子添加剤の 2 成分同時定量試験法の探索及び構築.....	5
【緒言】	5
【実験材料】	7
【実験方法】	7
【結果】	12
1. CAD を用いたサイズ排除クロマトグラフィによる HPMC の検出.....	12
2. CAD を用いた UHPLC システムによる CLZ と METOLOSE 90SH-100SR の同時検出.....	13
3. UHPLC システムによる 2 成分同時定量法の検証及び改良.....	15
4. 汎用水溶性高分子の検出確認.....	15
【考察】	17
第 2 節 分析法バリデーション.....	19
【緒言】	19
【実験材料】	20
【実験方法】	20
【結果】	23
1. 特異性	23
2. 直線性	25
3. 真度	25
4. 併行精度及び範囲.....	26
5. 安定性	26
【考察】	27

第 2 章 ハイドロゲルマトリックス型モデル徐放錠からの薬物溶出機構の解析	28
第 1 節 ハイドロゲルマトリックス型モデル徐放錠からの薬物溶出機構の解析	28
【緒言】	28
【実験材料】	30
【実験方法】	30
【結果】	34
1. PEO-4NF モデル徐放錠の溶出試験.....	34
2. PEO モデル徐放錠の溶出試験.....	36
3. HPMC モデル徐放錠の溶出試験	37
4. HPC モデル徐放錠の溶出試験.....	38
【考察】	39
第 2 節 CLZ モデル徐放錠の溶出メカニズムの解析.....	43
【緒言】	43
【実験材料】	44
【実験方法】	44
【結果】	45
1. CLZ モデルの外観観察.....	45
2. CLZ モデルにおけるゲル層中の白色凝集体の観察	46
3. 白色凝集体の成分分析.....	47
4. 水溶性高分子の粒子径.....	48
【考察】	49
結論.....	51
謝辞.....	53
引用文献.....	54

略語一覽

API	active pharmaceutical ingredient
BE	bioequivalence
CAD	charged aerosol detector
CLN	chemiluminescence nitrogen
CLZ	cilostazol
CTAB	cetyltrimethylammonium bromide
DDS	drug delivery system
DMF	drug master files
ELSD	evaporative light scattering detector
FDA	Food and Drug Administration
HPC	hydroxypropyl cellulose
HPLC	high performance liquid chromatography
HPMC	hydroxypropyl methylcellulose
HPMCP	hydroxypropyl methylcellulose phthalate
ICH	International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use
IID	inactive ingredient database
LCM	life cycle management
OROS	Osmotic Controlled Release Oral Delivery System
PDA	photodiode array
PEG	polyethylene glycol
PEO	polyethylene oxide
PRO	propranolol hydrochloride
PTFE	polytetrafluoroethylene
QOL	quality of life
RAN	ranitidine hydrochloride
RID	refractive index detector
RSD	relative standard deviation
S.D.	standard deviation
SEC	size exclusion chromatography
SLS	sodium lauryl sulfate
TFA	trifluoroacetic acid
UHPLC	ultra high performance liquid chromatography

USP	United States Pharmacopoeia
UV	ultraviolet

序論

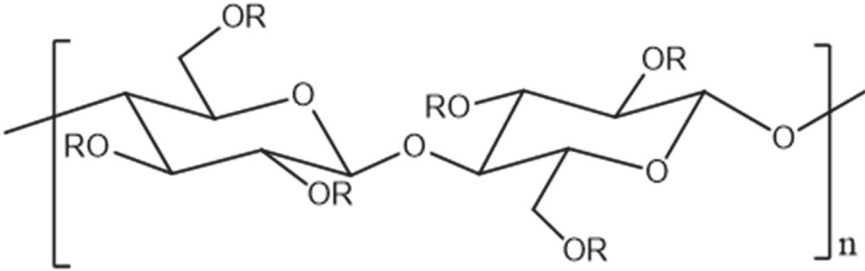
医薬品添加剤は「有効成分以外の物質を意味し、製剤の投与量において薬理作用を示さず無害なもの」と定義される¹。無害であることに加えて、多くの製剤の品質評価で分析対象は有効成分（active pharmaceutical ingredient, API）のみであることから、添加剤の役割を過小評価しがちである。しかし、その役割は多岐にわたり、医薬品の品質、有効性、安全性の確保における医薬品添加剤の果たす役割はきわめて重要である。例えば、API の安定性を確保するための適切な添加剤選択に始まり、嚥下力の低い小児や高齢者が服薬しやすくするための小型化や、多剤を取り扱う医療従事者及び患者が識別しやすくなるためのコーティングなどの例があり、服用感改善を目的とした医薬品添加剤は、製剤設計において数多く利用されている²⁻⁵。また、薬効を維持しつつ服薬回数を減らす徐放化は、患者のアドヒアランス向上に大いに貢献するが、医薬品添加剤の利用なくしては徐放化を達成することは困難である。さらに、ハイスループットスクリーニングの導入に伴い⁶、近年、難水溶性化合物が医薬品候補化合物として挙がるが多いため、API の溶解性改善を目的とした医薬品添加剤による固体分散体化や非晶質化に関する製剤技術の重要性が増加しつつある⁷⁻¹⁰。このように、医薬品添加剤は有効成分の特性及び適応症に合わせた製剤化に欠かせない材料となっている。

医薬品添加剤の中でも、とりわけ水溶性高分子は種類が多く、幅広く活用されている。FDA（米国食品医薬品局）の IID（inactive ingredient database）や DMF（drug master files）（Type IV）には多くの上市品製剤で使用実績のある医薬品添加物が掲載され、汎用性の高さが伺える^{11,12}。水溶性高分子は化学修飾とその程度により物性が微調整されており、また、同じ基本構造であっても分子量（モノマーの重合度）の相違により、使用目的は多岐にわたる。例えば、セルロースは結合剤や崩壊剤として用いられる汎用性の高い添加剤であるが、その誘導体にはカルメロースナトリウム（結合剤・崩壊剤）、クロスカルメロースナトリウム（スーパー崩壊剤）、エチルセルロース（不溶性コーティング剤）、メチルセルロース（結合剤・水溶性フィルムコーティング剤）、ヒドロキシプロピルセルロース（HPC）（結合剤・徐放剤）、ヒプロメロース（HPMC）（徐放剤・カプセル剤）などが挙げられ、その用途は様々である^{13,14}。（Table 1）

同じ規格を満たす添加剤は様々な供給業者から提供されるため、製剤設計に際して添加剤の選択肢は豊富である。一方、同規格の添加剤間であっても、製造性、溶出性、吸収性の異なる場合があるため^{15,16}、同種製品の比較検討は製剤開発において重要視される。また、Quality by Design の概念でも謳われているように、添加剤の管理戦略を確立するためにも添加剤の比較研究は重要と考えられる^{17,18}。添加剤の相違は、比較したい添加剤を用いて製した製剤間の API の溶出挙動を比較することで評価する方法が一般的であり、その背景には API の溶出挙動が製剤間の生物学的同等性を議論する際の重要な因子となっている状況が考えられる。例えば、製剤間における API の溶出挙動は判断基準として重要視され、API の溶出挙動が一致すれば、生物学的同等性試験（bioequivalence studies; BE）が免除される場合もある¹⁹⁻²¹。ただし、溶出性が非常に類似している場合でも、稀に *in vivo* での吸収性に相違が生じることがあ

るため、API の溶出性だけを指標に製剤を選定することはリスクが高いと考えられる。このようなリスクを鑑みて、近年、製剤からの API 溶出に加えて、吸収性も同時に評価できるシステムを構築する試みが報告されている。D/P system や MacroFLUX がその例である²²⁻²⁴。これらのシステムを用いて得られた情報は医薬品開発における製剤選択の一助になることは確かである。しかし、これらのシステムも API のみに着目しているため、溶出性及び吸収性の変化を理解する際の原因因子は直接特定しにくい。API の溶出に加えて、添加剤の溶出挙動を評価できれば、製剤全体の詳細な溶出性及び吸収性の理解を深めることができ、製剤の最適化につながると考えられる。

Table 1 Cellulose base polymer excipients and their main applications

Molecular structure		
		
側鎖構造	高分子種	用途
R= H	セルロース	賦形剤、崩壊剤、結合剤
R= H or CH ₂ COONa	カルメロースナトリウム	結合剤、崩壊剤
	クロスカルメロースナトリウム (カルメロースナトリウム内部架橋体)	スーパー崩壊剤、口腔内崩壊剤用賦形剤
R= H or CH ₂ CH ₃	エチルセルロース	結合剤、不溶性コーティング剤、浸透圧制御膜、口腔内崩壊錠用賦形剤
R= H or CH ₃	メチルセルロース	崩壊剤、結合剤、徐放基剤
R= H or CH ₂ CH(OH)CH ₃	ヒドロキシプロピルセルロース (HPC)	結合剤、崩壊剤、浸透圧制御剤、徐放基剤、口腔内崩壊錠用賦形剤
R= H or CH ₃ or CH ₂ CH(OH)CH ₃	ヒドロキシプロピルメチルセルロース (HPMC) (ヒプロメロース タイプ: 1828, 2208, 2906, 2910)	徐放基剤、崩壊剤、結合剤、浸透圧制御剤、コーティング剤、カプセル剤

添加剤の挙動解析に関する様々な報告がある中で、水溶性高分子を徐放基剤としたマトリックス型徐放製剤の溶解挙動は長年にわたり製剤研究者の注目を集めている。マトリックス型徐放製剤からの API の放出機構は主に「拡散型」と「浸食型」がある (Fig. 1)²⁵。溶解性が高い API の場合は、高分子基剤が溶媒と接触後膨潤し、製剤内に溶媒が浸潤してきたところを足場として API が溶解し拡散を開始する。一方、難溶解性 API の場合は、溶解性の低さゆえに、製剤内に溶媒が浸潤してきても溶解・拡散することはなく、高分子基剤の浸食が放出の律速段階となる。

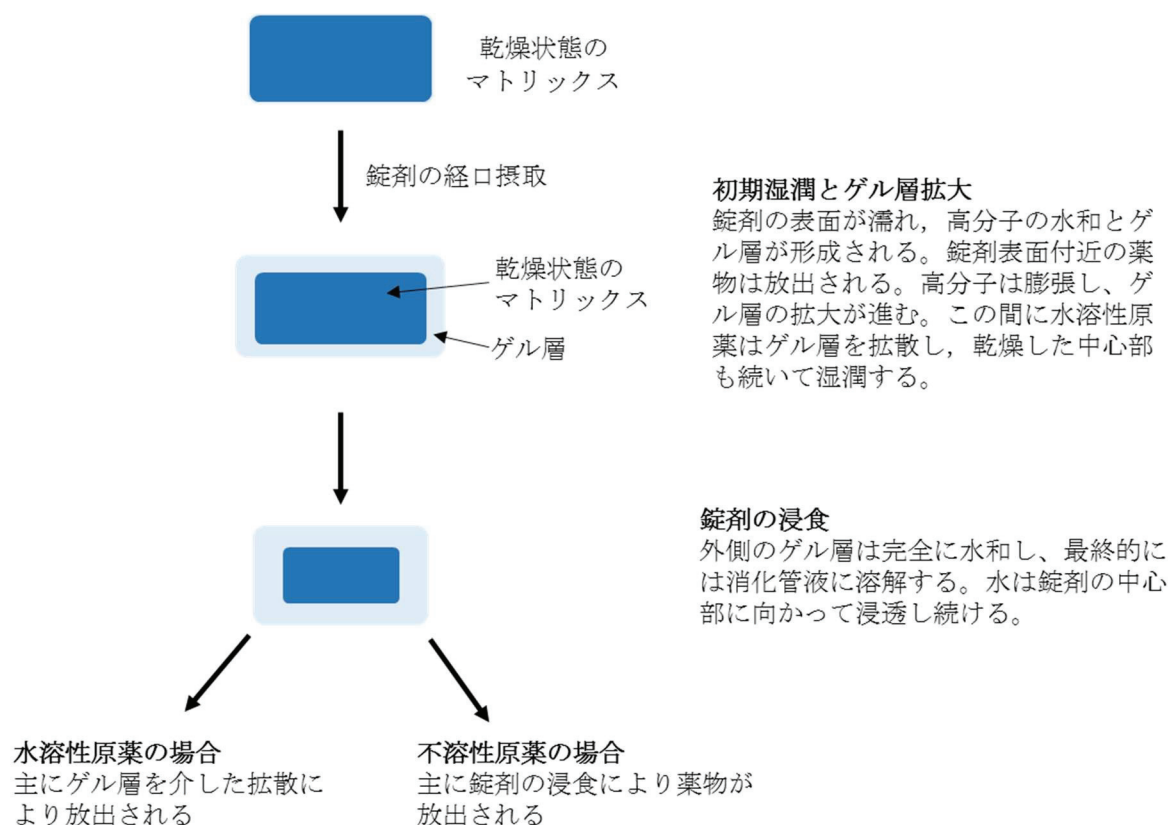


Fig. 1 Mechanism of drug release from a hydrophilic matrix tablet

このように、API の溶解性だけでなく、徐放基剤の膨潤と浸食は水溶性高分子を徐放基剤としたマトリックス型徐放製剤からの API 放出にとって、非常に重要な因子である。マトリックス徐放製剤に含まれる徐放基剤の挙動解析には、光学顕微鏡を用いた観察をはじめ、蛍光定量法、核磁気共鳴法、フーリエ変換赤外分光光度法などの技術が用いられ、様々な角度からアプローチされている²⁶。しかし、経時的に変化する水溶性高分子の溶出量を定量し、解析した報告例は少ない。水溶性高分子基剤の溶出量の経時変化から得られる情報は、製剤設計や API の溶出挙動の理解に有用であるにもかかわらず、その報告例が少ない要因として、徐放性製剤の比較が API の溶出挙動のみを指標にされる事例が多いこと、また、定量操作が煩雑であることが考えられる。

そこで本研究では、モデル製剤として汎用性の高い水溶性高分子添加剤を用いた徐放錠を調製し、溶出試験における API と水溶性高分子の 2 成分を迅速かつ同時に定量する分析法の構築を目的とした。第 1 章第 1 節では、API 及び水溶性高分子の分離を実現するカラム、検出器等の分析系について検討し、迅速かつ簡便な 2 成分同時定量法を確立した。第 1 章第 2 節では、得られた測定条件について、分析法バリデーションを実施し、分析法の妥当性を評価した。第 2 章第 1 節では、第 1 章で構築した試験法を適用し、モデル徐放錠の溶出試験における API と水溶性高分子の溶出挙動について評価・考察した。さらに第 2 章第 2 節ではモデル徐放錠の溶出機構を詳細に検証した。

以下、得られた結果を 2 章にわたり論述する。

本論

第 1 章 API 及び水溶性高分子添加剤の同時定量法の構築

第 1 節 API 及び水溶性高分子添加剤の 2 成分同時定量試験法の探索及び構築

【緒言】

製剤開発において医薬品添加剤の果たす役割は非常に大きい。近年、ハイスループットスクリーニングの導入に伴い、医薬品候補に挙がる化合物は難水溶性を示す場合が多いため、API の溶解性改善を目的として、医薬品添加剤を使用した固体分散体化、非晶質化する製剤技術を利用する機会が増大している^{6,27,28}。また、患者のアドヒアランス向上に貢献する徐放製剤は医薬品添加剤の利用なくして実現することは困難である。医薬品添加剤が有効成分の特性及び適応症に合わせた製剤化に欠かせない材料でありながら、医薬品申請時の製剤品質試験において医薬品添加剤を対象とした分析が求められることは少なく、製剤設計の際の製剤特性に関しては、主として、API の挙動を追うことで比較されている現状がある。

汎用的な医薬品添加剤には高分子化合物が多く含まれるが、これらは側鎖修飾や重合度の調整により様々な特徴を有する。それらの特性に合わせた用途で、添加剤高分子が選択・活用されることによって目的とする製剤化が実現される。経口固形製剤のうち、徐放製剤や固体分散体に用いられる高分子添加剤には水溶性のものが多く、その挙動は溶解速度や放出性等の API の挙動に大きな影響を与える²⁹⁻³¹。API の溶出に関わるメカニズム解析に対しては様々な分析系が用いられ、詳細な機構が明らかとなりつつある^{26,32-34}。一方、医薬品の品質試験項目であり、製剤評価の第一選択である溶出試験においては、API の溶出性のみに焦点があたり、API の溶出と同時に起こる水溶性高分子添加剤の溶出挙動を同時に定量している事例は少ない。溶出試験から得られる API 及び高分子添加剤の溶出挙動情報は、製剤全体の挙動を理解するために有用であるにもかかわらず、報告が少ない理由の一つとして、分析操作が煩雑である点が挙げられる。Ghori らはマトリックスの浸食とポリマーの溶解及び API 溶出の関連性を検証するため、溶解した HPMC を分光光度検出器で定量するために、phenol-sulfuric acid assay を行った³⁵。この手法は糖類の分析法として古くから活用されており、手技自体は難しくないが、複数の操作があるため、操作の煩雑さが懸念される。Kojima らは水溶性高分子であるポリエチレンオキサイド (polyethylene oxide; PEO) を主な基剤としたモデル徐放剤について、API の溶出機構を探る目的で、乾燥減量法を用いて PEO の溶解量を定量した³⁶。同様の目的で、Chaerunisaa らも乾燥減量から HPMC の定量を行っている³⁷。この手法は操作の煩雑性は低い反面、評価対象製剤を溶出試験中に取り出すため、破壊分析である。また、検証に多くの検体数が必要であることに加え、十分な乾燥時間を要することから、最終的な評価結果に至るまで長時間を必要とする。この点を改良するためには非破壊分析で高

分子を定量する必要がある。Ohara らは溶出試験の試験液を適宜採取し、示差屈折率検出器 (Refractive Index Detector; RID) を利用することで、溶解した高分子の定量が可能であることを示した³⁸。本法であれば溶出試験を途中で中断する必要はない。ただし、RID の検出感度は低く (Table 2)、分析対象である水溶性高分子の濃度が低い場合、定量が困難になる可能性が高い。また、一般的に用いられる高分子分析用の分離カラムはサイズ排除クロマトグラフィカラムで、カラムが長く、1 検体の分析時間が長い。結果的に、すべてのサンプリングポイントの検体の分析を完了するために、長い時間を必要とする点が懸念される。

以上、簡便かつ迅速に高分子添加剤の溶出量を測定する試験法の開発は、今後の製剤開発において、有意義な手法になると考えられる。本章では、モデル基剤として、汎用性の高い水溶性高分子を、モデル薬物として cilostazol (CLZ) を使用し、溶出試験を想定した分析系の構築について検討を行った。

【実験材料】

1. 試薬

CLZ は大塚製薬株式会社（東京）で合成されたものを使用した。hypromellose (Metolose 90SH-100SR) は信越化学工業株式会社（東京）より、polyethylene oxide (PEO-18NF) は住友精化株式会社（東京）より、Adsolider-101 はフロイント産業株式会社（東京）より、magnesium stearate は太平化学産業株式会社（東京）から購入した。その他の水溶性高分子は Table 3 に示す製品を各製造業者から購入した。Acetonitrile (Acetonitrile-Plus-) は関東化学より、trifluoroacetic acid (TFA)、sodium lauryl sulfate (SLS) は富士フィルム和光純薬工業株式会社（大阪）より購入した。

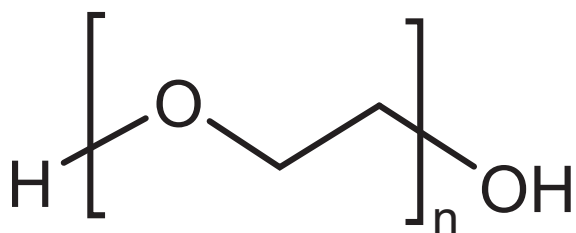


Fig. 2 Structure of polyethylene oxide

【実験方法】

1. 荷電化粒子検出器を用いたサイズ排除クロマトグラフィー

荷電化粒子検出器（charged aerosol detector; CAD）は検出対象物の化学的特性に大きく左右されない検出原理と感度を持つ汎用検出器である。構造を Fig. 3 に示す。検出対象物が移動相と共にカラムを通過して検出器に流入すると、窒素ガス気流下でネブライザーにより噴霧される。大きな液滴は廃液となり検出器外部に排出され、小さな液滴のみがエバポレーションチューブに流入する。液滴は加温により脱溶媒され、不揮発性成分が微粒子となる。一方、別の窒素ガス気流が高電圧の白金コロナ電極を通る際にプラスに荷電され、 N^+ イオンを生成する。この N^+ イオンがミキシングチャンバー内で脱溶媒後の粒子と衝突し、電荷を粒子表面に転移して、粒子をプラスに帯電させる。高い移動度の過剰な N^+ イオンはマイナスに荷電した低電圧のイオントラップにより除去され、荷電微粒子はイオントラップを通過する。荷電微粒子は導電性の膜フィルター（コレクター）衝突すると、電子が集められ、電流値として計測される。このような検出原理であるため、CAD は揮発性物質以外の全てが検出対象となる。従って、紫外可視分光光度検出器や蛍光検出器では検出できない検体でも、CAD は検出することができる。また光の屈折率を測定する RID に関しては、あらゆる物質を検出できる特徴は CAD と同様であるが、感度の点では劣る (Table 2) ³⁹。CAD は 4 桁のダイナミックレンジを誇り、検出限界が ng オーダーと非常に高感度である。このような長所が活かされている事例として、糖・脂質・界面活性剤の分析、医薬品とカウンターイオン、無機イオンの一斉分析、天然物・不純物分析が挙げられ、幅広く活用されている ³⁹⁻⁴³。

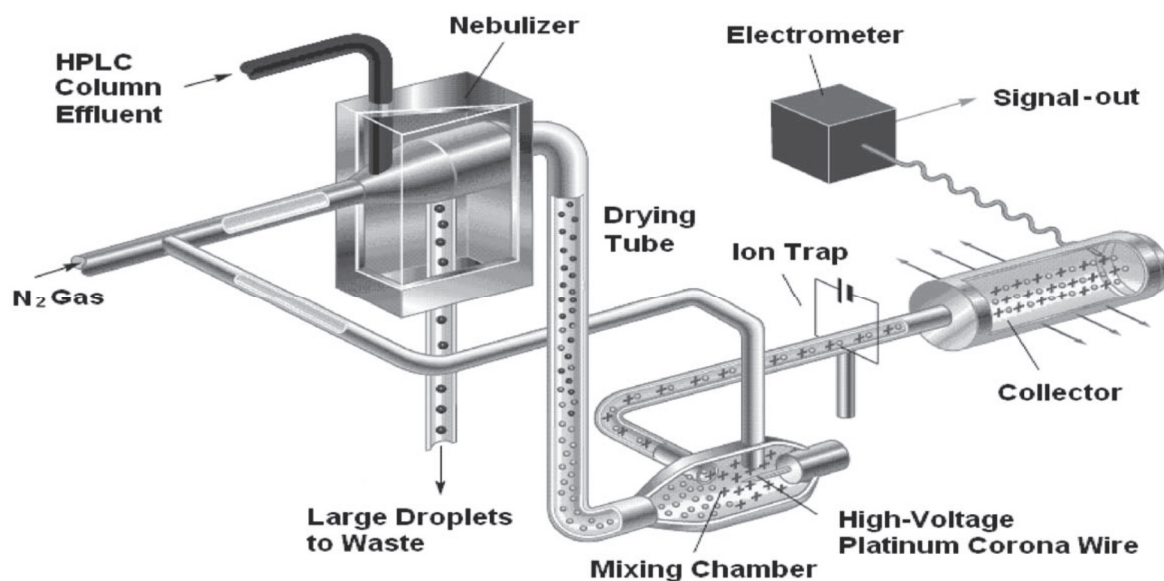


Fig. 3 Schematic drawing of the operating principle of charged aerosol detector ³⁹

Table 2 Comparison of HPLC detectors ³⁹

	Sensitivity	Dynamic range	Consistency of response	Applicability
CAD	★★★	★★★	★★★	★★★
UV	★★★	★★★	★	★★
ELSD	★★	★	★★	★★★
CLN	★★★	★★	★★	★★
RI	★	★★	★	★★
	Reproducibility	Chromatographic compatibility		Ease of use
CAD	★★★	★★★		★★★
UV	★★★	★★		★★★
ELSD	★	★★★		★★
CLN	★	★		★
RI	★★	★		★★★

ELSD: evaporative light scattering detector (蒸発光散乱検出器)

CLN: chemiluminescence nitrogen (化学発光窒素検出器)

★: Normal, ★★: Good, ★★★: Very good

水溶性高分子の定量に CAD が使用できるかを検証することを目的とし、CAD (Corona CAD; ESA Biosciences) を接続した HPLC システム (Alliance 2695, Waters) で、HPMC (METOLOSE 90SH-100SR) の検出について検討した。試験条件を以下に示す。

HPLC システム	: Alliance 2695 (Waters, MA, USA)
カラム	: TSKgel α -M 30 cm (TOSOH, Tokyo, Japan)
カラム温度	: 25°C
試料室温度	: 25°C
注入量	: 20 μ L
移動相	: acetonitrile/water/trifluoroacetic acid (500:500:1)
流速	: 0.8 mL/min
CAD nebulizer temperature	: 30°C
CAD gas pressure	: 35 psi

5 mg 及び 10 mg の METOLOSE 90SH-100SR を遠沈管に量り取り、精製水 100 mL を加えて振とうし、溶解した。孔径 0.45 μ m のフィルター (GHP Acrodisc PP 13 mm, Pall) で溶液をろ過し、検出確認用試料溶液とした。これは溶出試験液量を 900 mL、また、徐放基剤としての METOLOSE 90SH-100SR を 1 錠中 100 mg 含有するモデル徐放錠を想定した場合に、METOLOSE 90SH-100SR 溶出量が約 50 及び 100%相当となる濃度の試料溶液である。また、CLZ 徐放錠の溶出試験を想定し、試験液の 0.3%SLS 水溶液をブランク溶液とした。

2. UHPLC システムでのサイズ排除クロマトグラフィ I

CLZ 及び METOLOSE 90SH-100SR の 2 成分同時検出・定量を目的として UHPLC システムを用いた。CLZ 及び METOLOSE 90SH-100SR の検出は、それぞれフォトダイオードアレイ (PDA) 検出器及び CAD を用いて行った。試験条件を以下に示す。

UHPLC システム	: UltiMate 3000 (Thermo Fisher Scientific, MA, USA)
カラム	: ACQUITY UPLC Protein BEH125Å SEC guard column, 1.7 μ m, 4.6 \times 30 mm (Waters, MA, USA)
カラム温度	: 25°C
試料室温度	: 25°C
注入量	: 2 μ L
移動相	: acetonitrile/water/trifluoroacetic acid (500:500:1)
流速	: 0.2 mL/min
CAD nebulizer temperature	: 30°C
CAD gas pressure	: 35 psi
PDA detector wavelength	: 254 nm

CLZ と METOLOSE 90SH-100SR を 1 錠中にそれぞれ 100 mg ずつ含有する CLZ モデル徐放錠につき、0.3%SLS 水溶液 900 mL を試験液とする溶出試験を想定し、0.3%SLS 水溶液を調製溶媒とした。CLZ 及び METOLOSE 90SH-100SR の 2 成分が共に 0.011~0.11 mg/mL の濃度 (溶出率 10~100%に相当) となる様に調製溶媒に溶解し、孔径 0.22 μ m のフィルター

(TORAST Disc 親水性 PTFE 25 mm, 島津製作所) でろ過し、試料溶液とした。

3. UHPLC システムでのサイズ排除クロマトグラフィ II

PEO (分子量 5,000 kDa, 製品名 : PEO-18NF) の検出のため、上記 2 に示す試験条件のカラムを変更した。試験条件を以下に示す。

<試験条件>

カラム : ACQUITY UPLC Protein BEH125Å SEC guard column, 1.7 μm , 4.6 \times 30 mm

ACQUITY UPLC Protein BEH450Å SEC guard column, 2.5 μm , 4.6 \times 30 mm

その他の条件 : 上記 2 と同様

検出検証用の試料溶液として、0.11 mg/mL の PEO-18NF 水溶液を用いた。

4. 汎用水溶性高分子の検出の確認

3 の分析条件に基づいて、汎用性の高い水溶性高分子試料溶液を分析した。検討対象とした水溶性高分子添加剤を Table 3 に示した。このうち、HPMCP (HP-50)、Shin-Etsu AQOAT[®] AS-LF 及び Shin-Etsu AQOAT[®] AS-HF、Eudragit L100 は pH5 以上で溶解する特性を示すため、溶媒に 50 mM リン酸塩緩衝液 (pH 6.8) を用いて溶解した。その他の高分子添加剤は精製水に溶解し、濃度を 0.14~0.73 mg/mL とした。孔径 0.22 μm のフィルター (TORAST Disc 親水性 PTFE 25 mm, 島津製作所) でろ過し、試料溶液とした。

Table 3 Water-soluble polymers used in this study

Polymer	Product name	Molecular weight (kDa)*	Solubility
Polyethylene oxide	PEO-18NF ¹	5,000	Soluble
	PEO-8NF ¹	2,000	Soluble
	PEO-4NF ¹	600	Soluble
	POLYOX WSR Coagulant ²	5,000	Soluble
Polyethylene glycol	MACROGOL 6000 ³	8.6	Soluble
Hydroxypropyl cellulose	HPC-H ⁴	1,000	Soluble
	HPC-M ⁴	700	Soluble
	HPC-L ⁴	140	Soluble
Hypromellose	METOLOSE 90SH-100SR ⁵	100	Soluble
	METOLOSE 90SH-100000SR ⁵	800	Soluble
	TC-5R ⁵	35.6	Soluble
	Kollidon 25 ⁶	30	Soluble
Ethylene glycol and vinyl alcohol graft copolymer	Kollicoat IR ⁶	45	Soluble
Hypromellose phthalate	HPMCP (HP-50) ⁵	37.9	5.0**
Hypromellose acetate succinate	Shin-Etsu AQOAT® AS-LF ⁵	23.4	5.5**
	Shin-Etsu AQOAT® AS-HF ⁵	21.2	6.5**
Methacrylic acid copolymers	Eudragit L100 ⁷	125	6.0**

¹ Manufactured by Sumitomo Seika Chemicals Company, Ltd. (Tokyo, Japan)

² Manufactured by Dow Chemical Company (MI, USA)

³ Manufactured by Sanyo Chemical Industries, Ltd. (Kyoto, Japan)

⁴ Manufactured by Nippon Soda Co., Ltd. (Tokyo, Japan)

⁵ Manufactured by Shin-Etsu Chemical Co., Ltd. (Tokyo, Japan)

⁶ Manufactured by BASF (Ludwigshafen am Rhein, Germany)

⁷ Manufactured by Evonik Industries AG (Essen, Germany)

* Cited from the manufacturer's catalogue

** pH at which the polymer is soluble

(AAPS PharmSciTech. 2021, **22**, 262; Table 1)

【結果】

1. CAD を用いたサイズ排除クロマトグラフィによる HPMC の検出

CLZ モデル徐放錠の溶出試験を想定し、試験液である 0.3%SLS 水溶液と METOLOSE 90SH-100SR の溶出量が 50 及び 100%相当濃度の試料溶液を評価した。結果を Fig. 4 に示す。METOLOSE 90SH-100SR のピークは保持時間 6.5~11 分に認められ、負荷量に応じたピーク面積を示した (Fig. 4 (b), (c))。また、試験液由来の成分である SLS の保持時間は 11 分~18 分であり、METOLOSE 90SH-100SR との分離が示唆された (Fig. 4 (a))。本結果から、CAD を用いた分析系で、溶出試験における水溶性高分子の定量が可能であることが示唆された。しかし、SLS ピークのテーリングにより、分析に要する分析時間が延長する結果となった。そこで、次にこの点を改善するための検討を行うことにした。

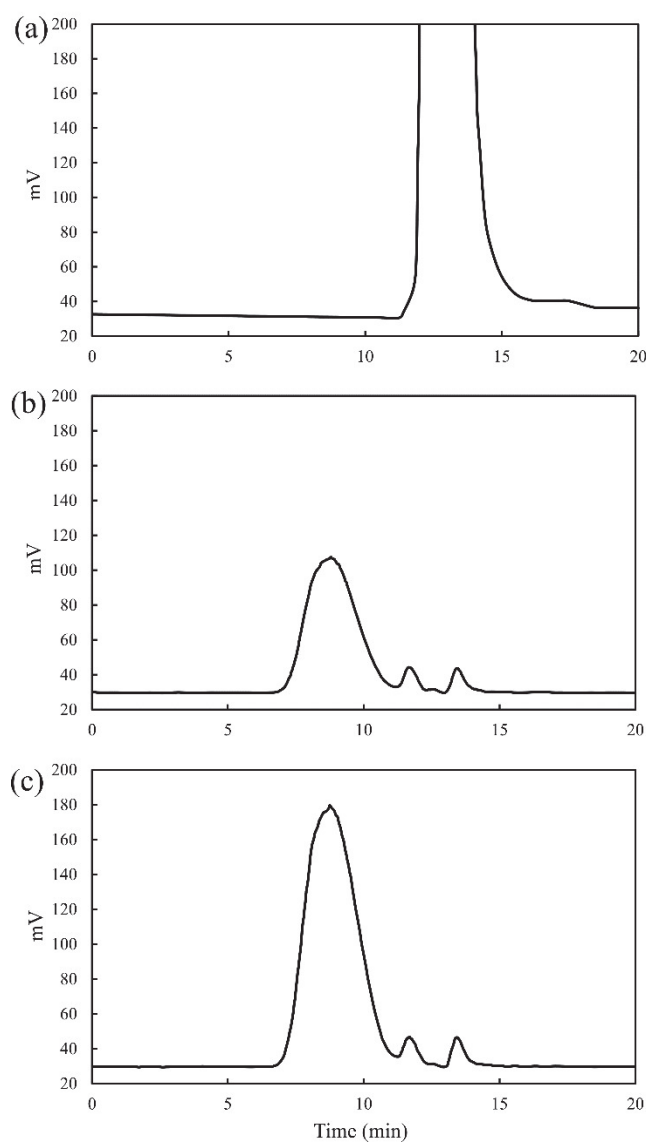


Fig. 4 Chromatgrams of HPMC solution using HPLC system

(a), 0.3% SLS solution (Blank); (b), 50% dissolved solution; (c), 100% dissolved solution

2. CAD を用いた UHPLC システムによる CLZ と METOLOSE 90SH-100SR の同時検出

CLZ モデル徐放錠の溶出試験を想定し、試験液である 0.3%SLS 水溶液を調製溶媒とした試験溶液について分析した。結果を Fig. 5 に示す。METOLOSE 90SH-100SR のピークは保持時間約 1.2 分に認められ、試験液由来の成分である SLS のピーク（保持時間 1.8～2.8 分）と分離した（Fig. 5 (a) - (d) CAD）。CLZ のピークは保持時間 1.7 分に認めた（Fig. 5 (a) - (d) UV）。2 成分共に負荷量に応じたピーク面積を示し、分析時間を約 3 分にまで短縮できることが明らかとなった。

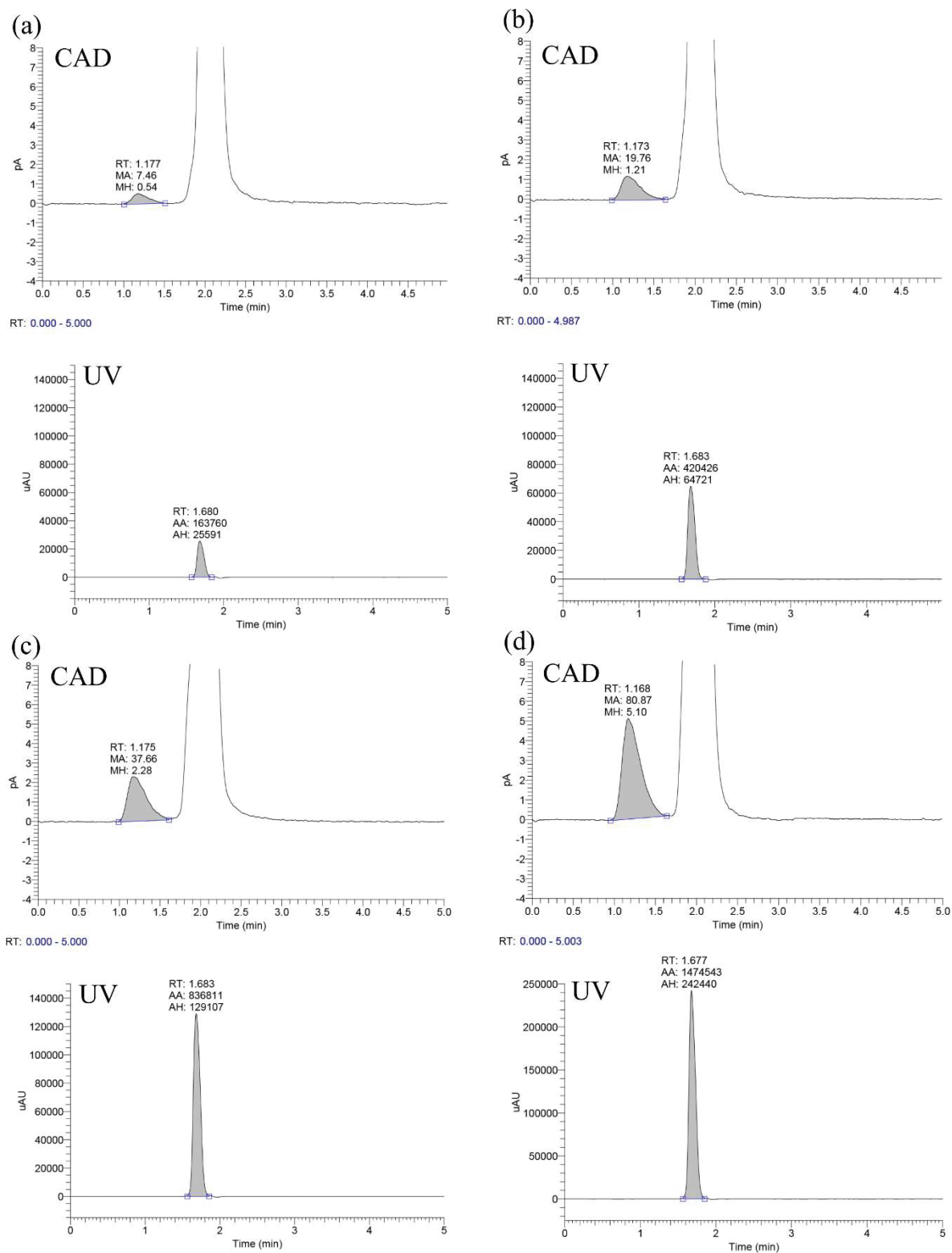
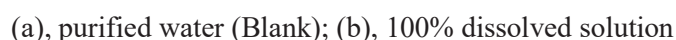


Fig. 5 UV and CAD chromatograms of CLZ and METOLOSE 90SH-100SR solution

(a), 10% dissolved solution; (b), 25% dissolved solution; (c), 50% dissolved solution; (d), 100% dissolved solution

上記 2 に記述した分析法が他の水溶性高分子に適応できるかどうかを確認することを目的として、高粘度グレードの PEO（分子量 5,000 kDa、PEO-18NF）検出の可能性を検討したところ、ピークが認められなかった。そこで、高分子量用 SEC カラム：ACQUITY UPLC Protein BEH450Å SEC guard column, 2.5 μ m, 4.6 \times 30 mm を追加したところ、PEO-18NF のピークは 1.8 ~ 3.5 分に認められ、検出が確認できた (Fig. 6)。以上の検討結果を踏まえ、本 UHPLC システムを 2 成分の同時分析法として確定した。



汎用性の高い数種類の水溶性高分子を用いて、前項において確立した分析法の検出能を評価した。結果を Fig. 7 に示す。すべての検体について、成分由来のピークが認められ、このうちリン酸塩緩衝液を溶媒とした HPMCP (HP-50)、Shin-Etsu AQOAT® AS-LF 及び Shin-Etsu AQOAT® AS-HF、Eudragit L100 では、溶媒由来成分のピークとの分離が認められた (Fig. 7 (d))。しかし、Kollidon 25、Kollicoat IR については、溶媒である水のピークとの良好な分離は観察されなかった (Fig. 7 (c))。

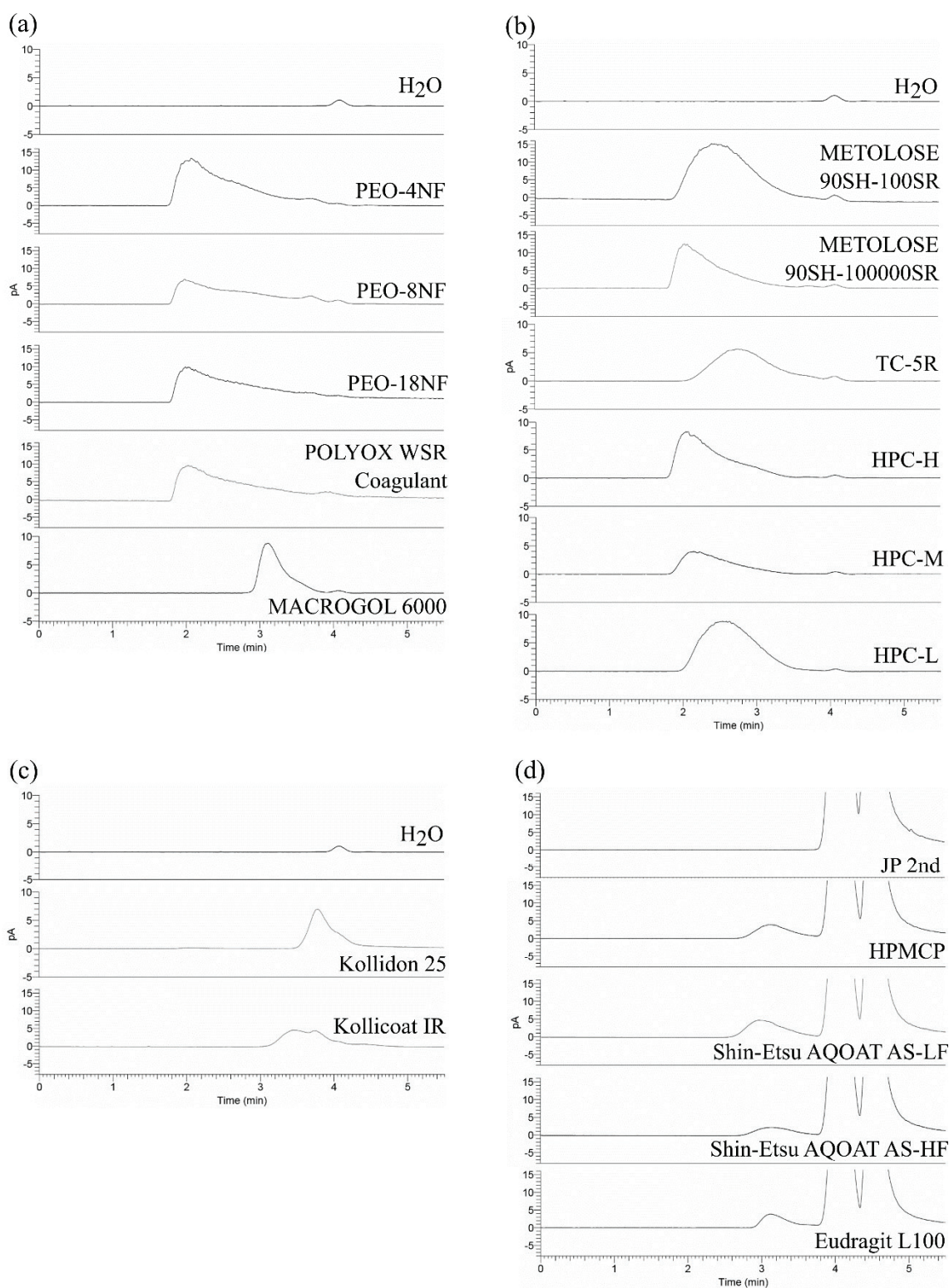


Fig. 7 Chromatograms after injection of each polymer into UHPLC system

(a), ethylene glycol type polymer dissolved in distilled water; (b), glucose derivatives type polymer dissolved in distilled water; (c), other type of polymer in distilled water; (d), other type of polymer dissolved in pH6.8 phosphate buffer (2nd fluid for the dissolution test)

(AAPS PharmSciTech 2021, **22**, 262; Fig. 1)

【考察】

本節では、水溶性高分子添加剤の溶出量の簡便かつ迅速な測定法の開発を目的に、モデル基剤に汎用性の高い水溶性高分子とモデル薬物に CLZ を使用し、溶出試験を想定した試料の分析について検討した。

当初、溶出した CLZ の測定はフローセルによる UV 検出器を用いる自動測定とし、高分子添加剤を別の方法で定量する測定法を想定し、検討を開始した。高分子の分析には分子量分布の確認等にサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) と RID が活用される場合が多いが、溶出試験における製剤由来の高分子の濃度を考慮すると、RID による検出では感度が不十分と予想された。そこで、高感度を期待できる CAD を検出器として利用した SEC を検討した。CAD を用いた溶出試験検体に含まれる水溶性高分子の測定は前例があるものの、対象となった高分子は 16 kDa の HPMC で、比較的粘度グレードの低いものであった⁴⁴。そこで、高粘度グレードの水溶性高分子についても、CAD が適応できるかを検証した結果、100 kDa の HPMC である METOLOSE 90SH-100SR を検出できた。また、試験液由来成分である SLS のピークとの分離も可能であることが示唆された。しかし、本条件の分析法を広く溶出試験に適応することを考慮すると、想定される高分子の濃度に対して、試験液由来成分の相対的濃度は顕著に高いことが想定される。本検証では、SLS が試験液由来成分にあたるが、SLS のピーク幅は 7 分程度と大きく、分析時間の長期化の原因であった。

試験液由来成分の分子量が SEC カラムの浸透限界分子量以下である場合、試験液由来成分が時間幅の大きいピークとして観察されることは SEC の不可避な短所であるが、1 検体の分析に要する時間を短縮することは迅速かつ簡便な分析につながる。そこで、測定システム全体の見直しを図った。装置として、通常の HPLC の代わりに高速測定が可能な UHPLC を利用し、CAD を併用するシステムに変更した。また、カラムと CAD の間に PDA 検出器を設けることで、分子量が浸透限界以下の API を紫外吸収により検出できると考え、異なる検出方法を備えた複数の装置による構成とした。UHPLC では通常の HPLC 以上にカラム背圧がかかるため、UHPLC 用カラムが必要であり、本検証ではタンパク質分析に汎用される SEC カラム ACQUITY UPLC Protein BEH125Å SEC guard column, 1.7 μm , 4.6 \times 30 mm (対象分子量目安 : 1 k-80 kDa) を用いた。本システムにおいても METOLOSE 90SH-100SR のピークと SLS のピークは良好に分離し、かつ、分析時間は 3 分程度と大幅な迅速化を実現することかできた。また、METOLOSE 90SH-100SR, CLZ 共に負荷量依存的なピーク面積を示した。これらの知見から、2 成分の同時定量が可能であることが示唆された。

予備実験として、CLZ と METOLOSE 90SH-100SR を含むモデル徐放錠の溶出試験を実施したところ、CLZ の溶解には約 15 時間程度の時間が必要であることが明らかとなった。1 日 1 回服用する徐放剤を想定して、24 時間の持続放出が可能な製剤を同量の徐放基剤を用いて実現しようとする場合、高粘度グレードの高分子添加剤を用いる必要がある。そこで、HPMC とは異なる骨格構造を有する、分子量 5000 kDa の PEO (PEO-18NF) の使用を想定し、本定量法で PEO-18NF が測定できるかを検証したところ、検出が認められなかった。検出に至らなかった原因は CAD の検出原理にあると考察した。排除限界分子量以上の高分子は SEC カラ

ムで保持・分離されないまま検出器へ流入する。検出器に流入した試料溶液は窒素ガス気流下で噴霧され微小液滴となるが、PEO-18NFの場合、検体自身の粘性も高く、このような試料溶液が検出器内へ短時間に大量に流入すると、スプレードライ効率の悪化が予想される。大きな液滴は脱溶媒される前に検出器から排出されるため、検出対象物質が荷電化に至らなかったと考察した。PEO-18NFを十分に保持・分離し、短時間での大量のPEOの流入を防ぐ必要があると考え、高分子量用SECカラムであるACQUITY UPLC Protein BEH450Å SEC guard column, 2.5 μm , 4.6 \times 30 mm (対象分子量目安: 100 k-1500 kDa)を追加し、検証した。その結果、PEO-18NFの検出が可能となり、分析法を改良することができた。以上の検討結果を踏まえ、本UHPLCシステムを2成分の同時分析法として確定した。

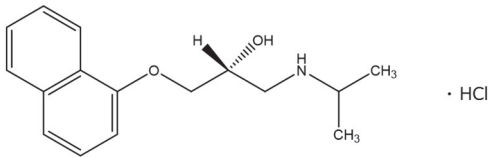
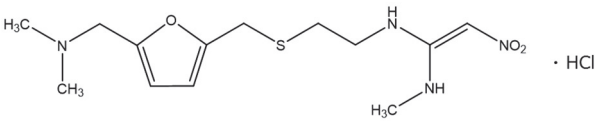
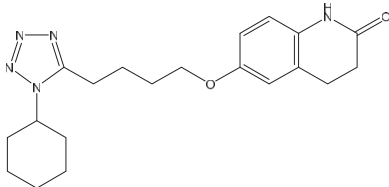
次に、本分析法の適用範囲を検証することを目的に、分子量8.6~5000 kDaの水溶性高分子を分析した。分析法の検討段階では試験液由来成分はSLSのみであったが、検討結果から50 mMリン酸塩緩衝液成分由来のピークと水溶性高分子ピーク的良好な分離を達成できることが示唆された。一方、Kollidon 25、Kollicoat IRについては、溶媒の水のピークとの良好な分離は示されなかった。両者の分子量は比較的小さく、それぞれ30 kDa及び45 kDaであり、使用したSECカラムの浸透限界以下の分画を含んだことが考えられた。さらに分子量の小さいMACROGOL6000やShin-Etsu AQOAT® AS-LF、AS-HFでピーク分離が実現した要因は、分子量とカラム中での分子の大きさ(広がり)には相違があることが考えられる⁴⁵。SECカラム中での分析対象物の分離は分子量の大小のみにより決定されるわけではなく、同一分子量の高分子であったとしても、高分子と移動相溶媒との親和性や、高分子の側鎖の数・長さ・化学的特性(電気的反発)により「空間的な分子の広がり(有効分子径)」が異なる場合がある。例えば、MACROGOL 6000 (8.6 kDa)は本検討で用いた高分子のうち、比較的小さい検体であるが、水との親和性が高く、有効分子径が大きくなる傾向があり、その結果、溶媒との分離が良好であったと考えられる。従って、一概に分子量のみが判断基準になるとは限らず、測定対象ごとに適切なSECカラム選定や試験条件(移動相組成等)を設定すれば、本UHPLCシステムの応用が可能と考えられる。

第 2 節 分析法バリデーション

【緒言】

第 1 章第 1 節において API 及び水溶性高分子の 2 成分を同時かつ迅速に分析する方法を構築した。本節では、本法を溶出試験に適用する妥当性を検証するため、モデル徐放錠の溶出試験を想定した分析法バリデーションを実施した。徐放基剤に分子量 600 kDa の PEO（製品名: PEO-4NF）を用い、モデル API として propranolol hydrochloride (PRO)、ranitidine hydrochloride (RAN)、CLZ を用いた 3 種類の製剤をモデル徐放錠として想定した。これら API は溶解性と膜透過性により化合物を 4 つのクラスに分類する biopharmaceutical classification system における Class1～3 に属する化合物の代表例として採用した⁴⁶⁻⁴⁸。これらの構造式及び物性値を Table 4 に示す⁴⁸⁻⁵¹。

Table 4 The structures and properties of model APIs

Model API	Structure	Properties
Propranolol hydrochloride (PRO)		Solubility: 0.1 g/mL pKa: 9.5 logP: 1.2
Ranitidine hydrochloride (RAN)		Solubility: 1.0 g/mL pKa: 8.38 logP: 1.52
Cilostazol (CLZ)		Solubility: 3 µg/mL pKa: - logP: 2.72

医薬品の分析法は医薬品規制調和国際会議（International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, ICH）が提唱する Q2 (R1) 分析法バリデーションガイドライン（以下 Q2 (R1) ガイドライン）に従って、その妥当性を示すことが求められている⁵²。本分析法は医薬品の申請に関わる品質試験の一環として取り扱うものではないが、Q2 (R1) ガイドラインには分析法の妥当性を示すための基本的な要素が含まれていることから、本ガイドラインに準じた検証が適切であると判断した。Q2 (R1) ガイドラインには溶出試験を含む定量法に対する実施項目として、特異性 (Specificity)、直線性 (Linearity)、範囲 (Range)、真度 (Accuracy)、精度 (Precision) が求められる。従って、本節ではこれらの項目に関して、PEO 及び API それぞれのバリデーションを実施した。

【実験材料】

1. 試薬

PRO 及び RAN は東京化成工業株式会社（東京）より購入した。PEO-4NF は住友精化株式会社（東京）より供与を受けた。Cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) は富士フィルム和光純薬工業株式会社（大阪）より購入した。その他の試薬については前節の実験材料に準じた。

【実験方法】

1. PRO 及び RAN を含有するモデル徐放錠を想定したバリデーション用試料溶液の調製

PRO 及び RAN を含有するモデル徐放錠は徐放基剤に PEO-4NF 100 mg、流動化剤に Adsolider-101 1 mg、滑沢剤に magnesium stearate 2 mg を含有し、API はフリー体換算で 100 mg 含有する処方方を想定した。また、溶出試験は試験液に 900 mL の精製水を用いることを想定したため、調製溶媒は精製水とした。バリデーション項目毎の試料溶液の調製方法を以下に示す。

<特異性用試料溶液>

PEO-4NF 濃度が 0.111 mg/mL (100 mg/900 mL、溶出率 100%相当濃度) となる PEO 水溶液 20 mL に Adsolider-101 1 mg 及び magnesium stearate 2 mg を添加・混合したものを孔径 0.22 μ m のフィルター (TORAST Disc 親水性 PTFE 25 mm, 島津製作所) でろ過し、API 特異性用試料溶液とした。同様に、API 濃度が 0.111 mg/mL (100 mg/900 mL、溶出率 100%相当濃度) となる API 水溶液 20 mL に Adsolider-101 1 mg 及び magnesium stearate 2 mg を添加・混合したものを孔径 0.22 μ m のフィルター (TORAST Disc 親水性 PTFE 25 mm, 島津製作所) でろ過し、PEO 特異性用試料溶液とした。

<直線性用試料溶液>

API 濃度及び PEO-4NF 濃度が 5.56 μ g/mL \sim 0.133 mg/mL (5.00 mg/900 mL \sim 120 mg/900 mL、溶出率 5 \sim 120%相当濃度) となる水溶液を API 直線性用試料溶液及び PEO 直線性用試料溶液とした。

<真度用試料溶液>

API 濃度が 5.56 μ g/mL \sim 0.133 mg/mL (5.00 mg/900 mL \sim 120 mg/900 mL、溶出率 5 \sim 120%相当濃度) で、さらに PEO-4NF 濃度が 0.111 mg/mL (100 mg/900 mL、溶出率 100%相当濃度) となる水溶液 20 mL に Adsolider-101 1 mg 及び magnesium stearate 2 mg を添加・混合したものを孔径 0.22 μ m のフィルター (TORAST Disc 親水性 PTFE 25 mm, 島津製作所) でろ過し、API 真度用試料溶液とした。

PEO-4NF 濃度が 5.56 μ g/mL \sim 0.133 mg/mL (5.00 mg/900 mL \sim 120 mg/900 mL、溶出率 5 \sim

120%相当濃度)で、さらに API 濃度が 0.111 mg/mL (100 mg/900 mL、溶出率 100%相当濃度)となる水溶液 20 mL に Adsolider-101 1 mg 及び magnesium stearate 2 mg を添加、混合したものを孔径 0.22 μm のフィルター (TORAST Disc 親水性 PTFE 25 mm, 島津製作所) でろ過し、PEO 真度用試料溶液とした。

成分毎に標準溶液として 5.56 $\mu\text{g/mL}$ ~0.133 mg/mL (5.00 mg/900 mL~120 mg/900 mL、溶出率 5~120%相当濃度)となる水溶液を真度用標準溶液とした。なお、真度用標準溶液調製の際は試料溶液と同じ母液からの希釈とした。

2. CLZ を含有するモデル徐放錠を想定したバリデーション用試料溶液の調製

CLZ を含有するモデル徐放錠は徐放基剤に PEO-4NF 100 mg、流動化剤に Adsolider-101 1 mg、滑沢剤に magnesium stearate 2 mg を含有し、CLZ を 100 mg 含有する処方を想定した。また、溶出試験は試験液に 900 mL の 0.3% CTAB 水溶液を用いることを想定した。バリデーション項目毎の試料溶液の調製方法は上述の 1 に記載した方法で、調製溶媒を 0.3%CTAB 水溶液とした。なお、SLS と基剤である PEO が相互作用し、試験液の粘性を上昇させ、採取液量の精度を悪化させることが判明したため、使用する界面活性剤を SLS から CTAB に変更した。

3. API 及び水溶性高分子 2 成分同時分析法での分析

バリデーション用試料溶液は以下の UHPLC 条件にて分析した。

UHPLC システム	: UltiMate 3000 (Thermo Fisher Scientific, MA, USA)
カラム	: ACQUITY UPLC Protein BEH125Å SEC guard column, 1.7 μm , 4.6 \times 30 mm ACQUITY UPLC Protein BEH450Å SEC guard column, 2.5 μm , 4.6 \times 30 mm (Waters, MA, USA)
カラム温度	: 25°C
試料室温度	: 25°C
注入量	: 2 μL
移動相	: acetonitrile/water/trifluoroacetic acid (500:500:1)
流速	: 0.2 mL/min
CAD	: 30°C
nebulizer temperature	
CAD gas pressure	: 35 psi
PDA detector wavelength	: PRO: 290 nm,RAN: 315 nm, CLZ: 254 nm

4. 評価方法

各項目における分析回数及び評価方法を以下に示す。

<特異性>

分析回数は1回とし、API 特異性用試料溶液の UV クロマトグラムにおいて、API の定量を妨害するピークを認めないことを確認した。同様に、PEO 特異性用試料溶液の CAD クロマトグラムにおいて、PEO の定量を妨害するピークを認めないことを確認した。

<直線性>

分析回数は3回とし、API の場合は UV ピーク面積、PEO の場合は CAD ピーク面積を注入量に対してプロットし、最小二乗法による線形回帰で求めた傾き、切片、相関係数を算出した。

<真度>

分析回数は3回とし、各試料溶液から得られる面積値について、標準溶液から得られる面積値に対する回収率を求めた。また、回収率の平均値及び相対標準偏差を求めた。

<併行精度>

精度については併行精度 (repeatability) として、API、PEO 共に溶出率 100%相当の真度用試料溶液 3 種を 6 回分析し、それぞれにつき相対標準偏差を求めた。

<安定性>

試料溶液の安定性については Q2 (R1) ガイドラインの実施項目の頑健性 (Robustness) で触れている。実際の溶出試験では、容器から採取後、UHPLC システムでの注入・分析までに時間を要することが考えられる。従って、採取後の試料安定性を確認するために、API、PEO 共に溶出率 100%相当の真度用試料溶液 3 種を調製から 48 時間後 (保存条件: 25℃) に再分析し、残存率を算出した。

【結果】

1. 特異性

各モデル徐放錠の溶出試験を想定した条件で特異性を確認した。特異性用試料溶液の分析結果を Fig. 8 及び Fig. 9 に示す。

PRO 及び RAN モデルにおける API 特異性用試料溶液は API 成分以外を含み、CAD クロマトグラムに PEO のピークを認め (Fig. 8 (a) CAD)、UV クロマトグラムには PRO 及び RAN の定量を妨害するピークを認めなかった (Fig. 8 (a) UV)。一方、PRO 及び RAN モデルにおける PEO 特異性用試料溶液は PEO 成分以外を含むことから、UV クロマトグラムに PRO 及び RAN 由来のピークを認め (Fig. 8 (b) UV 及び Fig. 8 (c) UV)、それぞれの CAD クロマトグラムには、API 由来のピークも認められた。しかし、PEO ピークの保持時間である 1.8~3.5 分にはピークは存在せず、PEO の定量を妨害するピークは認めなかった (Fig. 8 (b) CAD 及び Fig. 8 (c) CAD)。

CLZ モデルの溶出試験では、試験液として 0.3% CTAB 水溶液を使用することを想定しているため、調製溶媒には 0.3% CTAB 水溶液を用いた。この CTAB 由来のピークは CAD クロマトグラムで見られたが、UV クロマトグラムには認められなかった。API 特異性用試料溶液は CLZ 成分以外を含むため、CAD クロマトグラムに PEO 及び CTAB のピークを認め (Fig. 9 (b) CAD)、UV クロマトグラムに CLZ の定量を妨害するピークを認めなかった (Fig. 9 (b) UV)。CLZ モデルにおける PEO 特異性用試料溶液は PEO 成分以外を含むことから、UV クロマトグラムには CLZ のピークを認め (Fig. 9 (c) UV)、CAD クロマトグラムには PEO の定量を妨害するピークは認めなかった (Fig. 9 (c) CAD)。

以上の結果から、すべての 2 成分同時定量法における特異性が確認された。

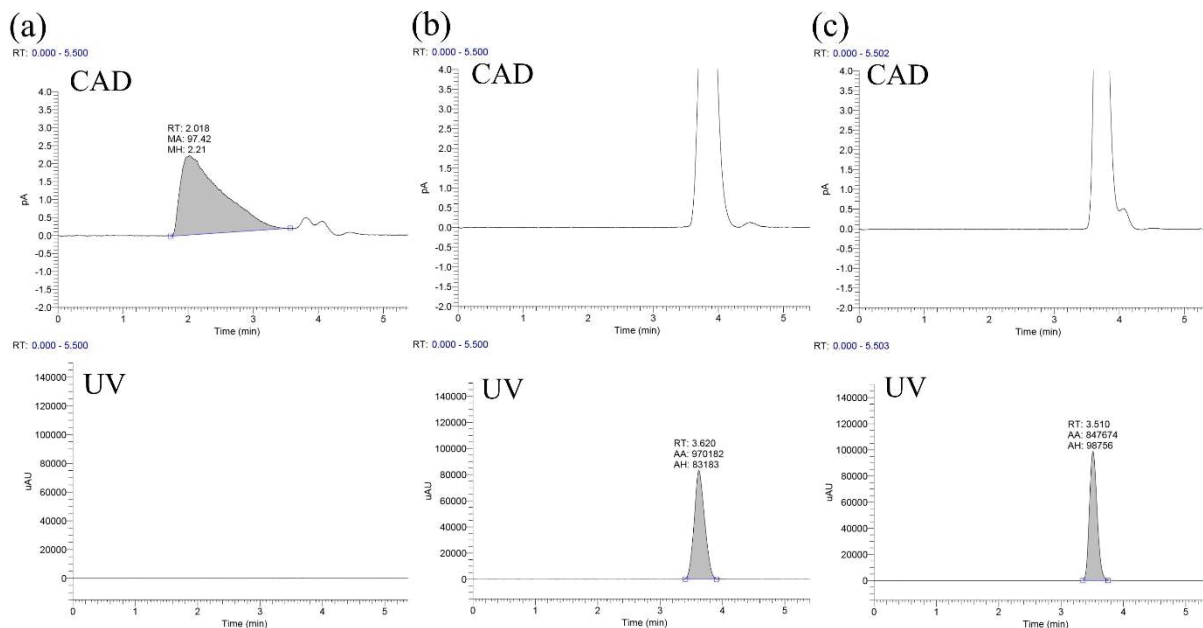


Fig. 8 UV and CAD Chromatograms after injection of (a) PEO-4NF, (b) PRO and (c) RAN dissolved in purified water
(AAPS PharmSciTech 2021, **22**, 262; Fig. 2)

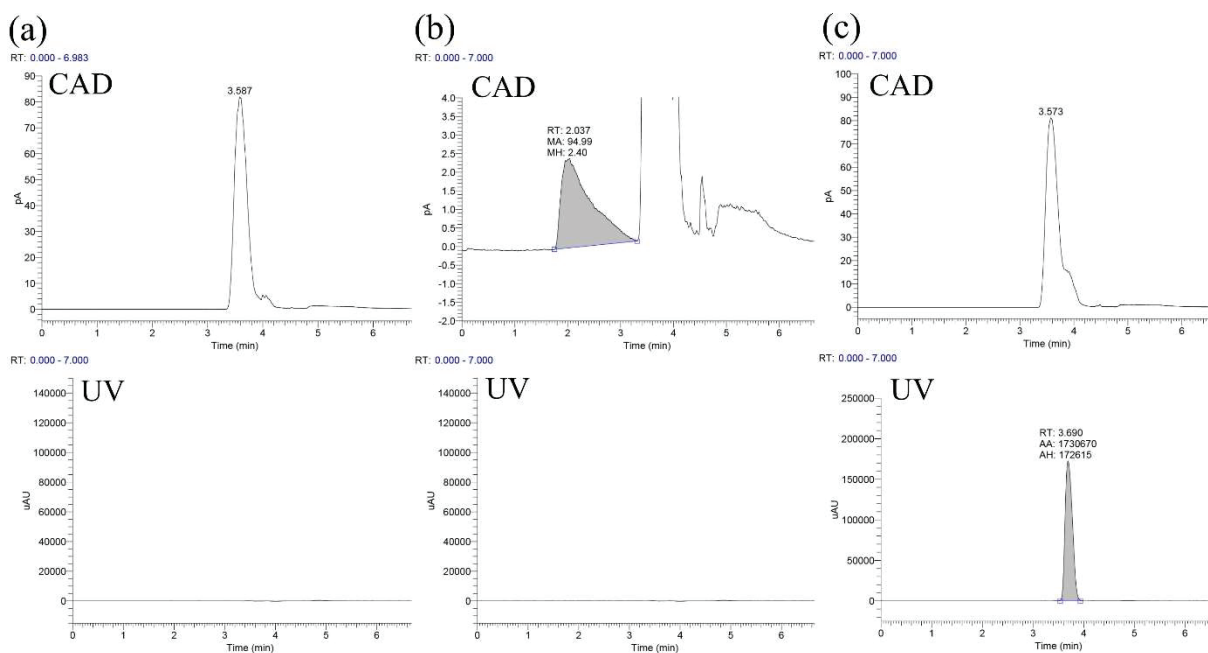


Fig. 9 UV and CAD Chromatograms after injection of (a) blank (0.3% CTAB), (b) PEO-4NF and (c) CLZ dissolved in 0.3% CTAB
(AAPS PharmSciTech 2021, **22**, 262; Fig. 3)

2. 直線性

3種類のモデル徐放錠の直線性として、精製水媒体のPRO、RAN、PEO及び0.3%CTAB水溶液媒体のCLZ、PEOの5種について評価した。負荷量(μg)と各成分のピーク面積との間で検量線を作成し、最小二乗法による回帰直線及び相関係数の算出を行った。結果をFig. 10に示す。

PROの負荷量12.68 ng/2 μL~304.3 ng/2 μL(溶出率5~120%相当)の範囲において、負荷量と面積値の間に相関係数0.99991のほぼ原点を通る直線関係が得られた。また、RANの場合、負荷量12.45 ng/2 μL~298.7 ng/2 μL(溶出率5~120%相当)の範囲で相関係数は0.99995、CLZの場合、負荷量11.13 ng/2 μL~267.2 ng/2 μL(溶出率5~120%相当)の範囲で相関係数は0.9998であった。PEO水溶液については、負荷量11.10 ng/2 μL~266.4 ng/2 μL(溶出率5~120%相当)の範囲で相関係数は0.997であり、PEO/0.3%CTAB水溶液については、負荷量11.13 ng/2 μL~267.2 ng/2 μL(溶出率5~120%相当)の範囲で相関係数は0.997であった。

以上の結果より、すべての成分において相関係数0.990以上の良好な直線性が確認された。

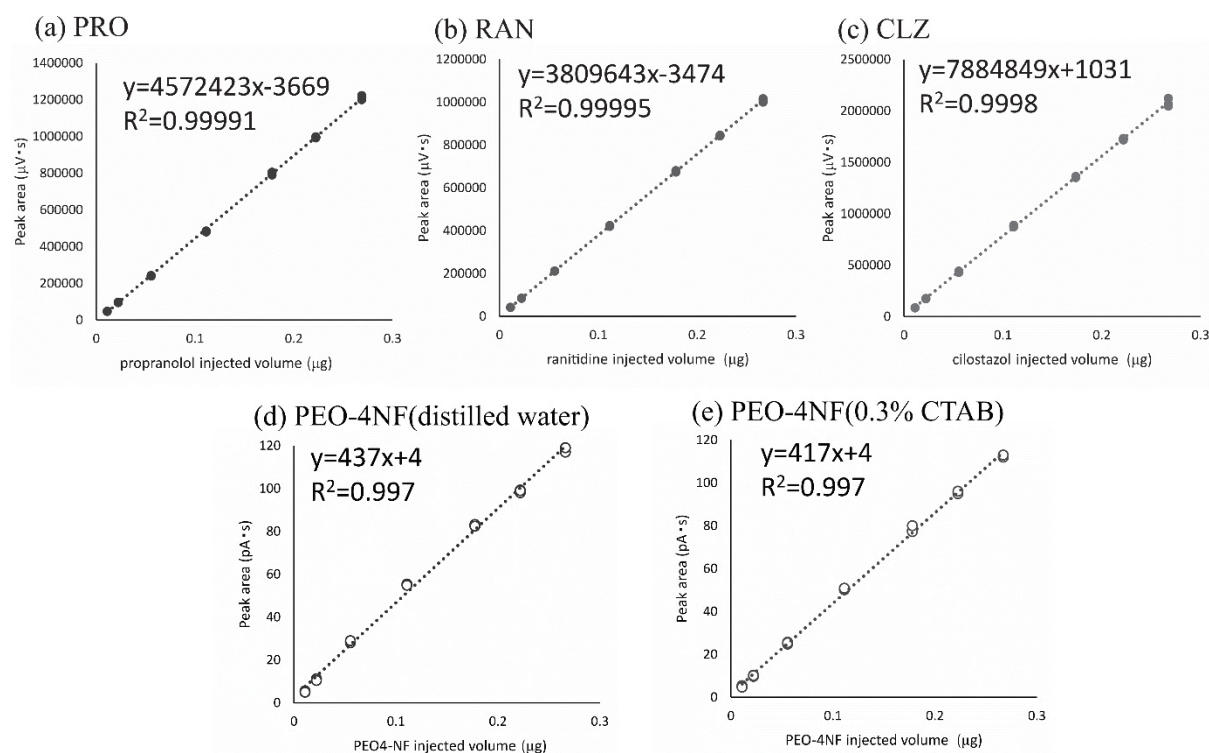


Fig. 10 The linear relation between injected amount and the peak area of APIs and PEO-4NF

(AAPS PharmSciTech 2021, 22, 262; Fig. 4)

3. 真度

真度試料溶液分析結果における個々の値の変動幅、平均値及び相対標準偏差をTable 5に示す。いずれの成分についても、低濃度(溶出率5%相当濃度)から高濃度(溶出率120%相当濃度)において、95~102%と良好な回収率が確認された。

Table 5 The range and average of recoveries and relative standard deviation (RSD) of APIs and PEO-4NF at each concentration (5-120% of complete dissolution)

Analyte concentration (%)	Accuracy (%)					
	PEO4 PRO		PEO4 RAN		PEO4 CLZ	
	PRO	PEO-4NF	RAN	PEO-4NF	CLZ	PEO-4NF
5	96–98	99–102	99–101	98–102	100–100	100–102
mean (RSD)	97 (1.2)	100 (1.5)	100 (1.0)	99 (2.7)	100 (0.0)	101 (1.0)
10	96–98	98–99	101–101	95–97	100–102	98–101
mean (RSD)	97 (1.2)	98 (0.6)	101 (0.0)	96 (1.0)	101 (1.0)	97 (5.3)
25	95–97	100–101	101–101	99–100	99–102	96–100
mean (RSD)	96 (1.0)	100 (0.6)	101 (0.0)	100 (0.6)	101 (1.7)	99 (2.3)
50	95–96	100–102	100–101	98–98	99–101	99–99
mean (RSD)	96 (0.6)	101 (1.1)	101 (0.6)	98 (0.0)	100 (1.0)	99 (0.0)
80	99–101	97–100	100–101	99–101	96–96	100–101
mean (RSD)	100 (1.0)	98 (1.6)	101 (0.6)	100 (1.0)	96 (0.0)	100 (0.6)
100	98–99	98–99	100–100	99–101	98–99	98–99
mean (RSD)	98 (0.6)	99 (0.6)	100 (0.0)	100 (1.0)	98 (0.6)	99 (0.6)
120	98–100	101–102	98–100	100–102	98–101	100–101
mean (RSD)	99 (1.0)	101 (0.6)	99 (1.0)	101 (1.1)	99 (1.5)	100 (0.6)

(AAPS PharmSciTech 2021, 22, 262;Table III)

4. 併行精度及び範囲

API、PEO 共に溶出率 100%相当の真度用試料溶液 3 種を 6 回分析し、それぞれの相対標準偏差を求めて併行精度について評価した。精製水中における PEO 共存下の PRO は 0.7%、PRO 共存下の PEO は 1.5%、PEO 共存下の RAN は 1.2%、RAN 共存下の PEO は 1.5%であった。また、0.3%CTAB 水溶液中における PEO 共存下の CLZ は 1.2%、CLZ 共存下の PEO は 0.7%であり、いずれの結果からも本試験の精度が溶出試験における定量法として十分であることが確認された。

以上、特異性、直線性、真度、併行精度の結果から、本法は 5～120%の範囲で試験法の妥当性が示された。

5. 安定性

調製から約 48 時間後の試料溶液につき分析し、残存率を算出した。精製水中における PEO 共存下の PRO 残存率は $100 \pm 0.7\%$ 、PRO 共存下の PEO 残存率は $104 \pm 0.6\%$ 、PEO 共存下の RAN 残存率は $99 \pm 0.3\%$ 、RAN 共存下の PEO 残存率は $103 \pm 0.0\%$ であった。また、0.3%CTAB 水溶液中における PEO 共存下の CLZ 残存率は $101 \pm 0.2\%$ 、CLZ 共存下の PEO 残存率は $98 \pm 0.8\%$ であった。

【考察】

本節では、第1章第1節で提示したAPIと水溶性高分子の2成分同時定量法を溶出試験に適用する妥当性を検証するため、モデル徐放錠の溶出試験を想定した試験法バリデーションを実施した。

Fig. 8 及び Fig. 9 に示す特異性の結果からは、いずれの成分でも良好な特異性が認められた。ただし、溶媒を 0.3%CTAB 水溶液とした CLZ モデルの溶出試験を想定した分析では、CTAB 成分由来の大きくブロードなピークが後に続く分析に影響する場合があった。従って、第1章第1節で検証した段階 (Fig. 6) では、1 試料の分析に約 5 分という迅速な分析が実現できていたが、一連のバリデーション分析では 1 試料の分析を 7 分で実施した経緯がある。溶出試験の試験液は API の物性や製剤特性に応じて様々な界面活性剤の添加や緩衝液の使用が想定されることから、分析対象の水溶性高分子と試験液成分由来のピーク分離を達成することに加えて、試験液成分由来のピークが分析時間に与える影響を評価、考慮する必要性が示唆された。

直線性に関しては、すべての成分について、0.990 以上の相関係数という良好な結果を得た。本研究における分析では、いずれの成分の負荷量も約 11.11~266.7 ng と限定的であったため、直線性を担保できたと考えられる。CAD による直線性が確認できている報告例は他にもあるが^{40,43}、想定される負荷量が広範囲となる場合は、直線近似が困難になる可能性がある。これは CAD の検出メカニズムによるものである。CAD による検出は帯電した微粒子表面の電荷量と微粒子の総数に依存するため、広範囲の負荷量を対象とする検量線の場合、 $y = ax^b$ (y : ピーク面積、 x : 試料質量、 a, b : 係数) の式に従い、負荷量に対するピーク面積値は非線形になる^{53,54}。従って、本法を実製剤分析に適応する際には、分析対象の実負荷量を考慮した両対数式や二次式を検量線とする必要があると考えられた。

真度、精度共に良好な結果が得られ、各モデル製剤を想定した溶出試験における API 及び水溶性高分子の定量は 5~120% の範囲で妥当性が確認できた。また、48 時間の安定性も確認されたことから、本法が実分析に適応可能な試験法であることが示唆された。なお、評価した溶液の安定性については Q2 (R1) ガイドラインで提示されている項目の頑健性のうち、最も配慮されるべき事項であると考え実施した。徐放製剤の場合、溶出試験実施から分析完了までの時間は長期化が予想され、その間に定量対象である API や水溶性高分子の分解の進行が主な懸念であった。検討の結果、残存率は良好であり、PEO のピーク形状についても著しい変化は認められなかったことから、この点における頑健性は確認できたと判断した。その他の頑健性 (分析パラメータの変動の影響やカラムの Lot 間差の影響度の確認) に関しては今後、実分析の実績を重ねる中で十分に精査すべき課題である。

第 2 章 ハイドロゲルマトリックス型モデル徐放錠からの

薬物溶出機構の解析

第 1 節 ハイドロゲルマトリックス型モデル徐放錠からの薬物溶出機構の解析

【緒言】

DDS (drug delivery system) 技術の開発は約 60 年前から研究が開始され、様々な経口徐放製剤が創製されてきた。製薬業界が新モダリティにシフトしていく昨今においても、LCM (life cycle management) による数多くの徐放製剤は、患者の QOL (quality of life) 向上に一役買っている。特に経口固形徐放剤はアドヒアランスの観点から、患者と医療従事者の双方にとって望ましい剤形である⁵⁵⁻⁵⁷。また、経口固形徐放剤は LCM としても今なお重要な剤形の一つであり、その種類はマトリックス製剤や OROS システム、水溶性高分子や水不溶性高分子を用いたコーティング剤等、多岐にわたる。中でもハイドロゲルマトリックス型製剤は徐放機構に関する知見が多く、製造性も良好なため、汎用される剤形である。

安全性が高く、API との互換性も良好な水溶性高分子として HPMC や PEO が登場して以降、これら水溶性高分子を用いたハイドロゲルマトリックス型徐放錠に関する研究と医薬品の開発は活発に取り組まれてきた^{13,14,58,59}。ハイドロゲルマトリックス型徐放錠における API の放出機構の鍵となるのは、ポリマーの量、API の含量、API と基剤高分子間の相互作用、錠剤形状や溶出試験の液種等であることが明らかとなっており、製剤設計では、高分子基剤の粘度グレードと添加量の調整が大きな課題とされる⁶⁰。これらに関する検討は、通常 API の溶出挙動の評価を通じて行われ、その解析には、これまでに研究されてきた数理モデルが適用されている⁶⁰⁻⁶³。しかし、緻密な放出制御を施したとしても、*in vitro* での溶出と *in vivo* 吸収には乖離が認められることが多く、製剤技術者にとってその原因解明は克服すべきハードルの一つである⁶⁴。実際、*in vitro* と *in vivo* の乖離は薬物物性（薬物自体の溶解度や膜透過度）に起因することが多いが、消化管内での製剤の状態が薬物放出に影響することもあるため、基剤の挙動解析が非常に重要と考えられる。

水溶性高分子添加剤を基剤としたハイドロゲルマトリックス型徐放錠が溶媒と接触すると、複数の境界面が生じ、それぞれの境界面間で高分子と API の状態が異なることが知られている^{25,56,63}。一番外側に位置するのは、溶媒と錠剤の境界面の *erosion front* で、その内側の錠剤表面には高分子により形成されたゲル層 (gel layer) が存在する。一番内側に生じるのは溶媒が浸潤する最前線で、高分子が濡れていないガラス状態 (glass state) と濡れているゴム様状態 (rubbery state) となる境界面の *swelling front* である。*erosion front* と *swelling front* の間に生じる *diffusion front* は、API の状態が異なる境界であり、これより内側に存在する API は固体、外側の API は溶解状態となっている。水溶性 API を含有する徐放錠の場合、溶媒が浸潤すると API が速やかに溶解するため、*diffusion front* が *swelling front* に接近し、API は最外層のゲ

ル層を拡散し、放出される「拡散型溶出（diffusion type release）」を示す。一方で、難水溶性 API を含有する徐放錠の場合、溶媒が浸潤しても API は溶解しないため、diffusion front が erosion front の近傍に存在したままとなる。API の溶解度が著しく低い場合、最外層のゲル層の浸食が放出の律速となる「浸食型溶出（erosion type release）」を示す。このように、水溶性高分子マトリックス錠からの API の放出は、溶媒への曝露によって引き起こされ、溶媒、水溶性高分子、API の相互作用により制御されながら進行する。

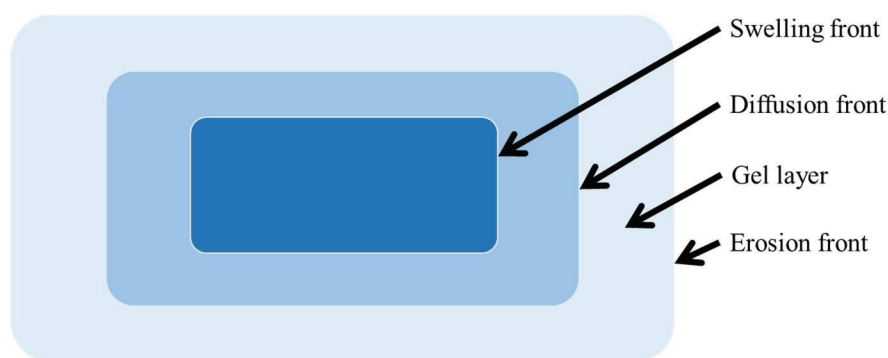


Fig. 11 Hydrophilic matrix after introduction of formulations into the dissolution medium ⁵⁶

第 1 章では、API と水溶性高分子添加剤の 2 成分を迅速かつ同時に定量する分析方法を構築した。本分析法を溶出試験に適用し、2 成分の溶出挙動を追うことができれば、簡便に「拡散型溶出」か「浸食型溶出」かを可視化し、同定することができると考えられる。本節ではまず、本法を徐放錠の溶出試験に適用できるかを検証することを目的として、第 1 章第 2 節で分析法バリデーションを実施する際に想定したモデル徐放錠群を用いて、溶出試験を実施した。続いて、本法の適用範囲を検証し、2 成分それぞれの溶出挙動から溶出機構を考察することを目的として、高粘度グレードの高分子で製したモデル徐放錠を用いた検討を行った。モデル製剤は水溶性高分子基剤として、高粘度グレードの PEO（製品名：PEO-18NF）、HPMC（製品名：METOLOSE 90SH-100000SR）、HPC（製品名：HPC-H）を用い、API には PRO、RAN、CLZ をそれぞれ用いた 9 種の徐放錠とした。

【実験材料】

1. 試薬

試薬は前章の実験材料に準じた。

【実験方法】

1. モデル徐放錠の調製

本節で用いたモデル徐放錠の処方を Table 6、Table 7 に示す。すべての成分は混合前に 500 μm メッシュで篩過した。水溶性高分子添加剤と API（フリー体換算）が質量比 1:1 となるように秤量し、残りの成分を処方量に応じて添加、混合した。混合末の処方量を量り、CRUX 033 L（KIKUSUI, Kyoto, Japan）を用いて打錠圧 8 kN で打錠し、8 mm 径の円形錠とした。すべての錠剤はポリ袋／アルミ袋包装し、室温保存とした。

Table 6 Formulation of model matrix tablets prepared from PEO-4NF

	PEO4 PRO	PEO4 RAN	PEO4 CLZ
Propranolol hydrochloride	114	—	—
Ranitidine hydrochloride	—	112	—
Cilostazol	—	—	100
PEO-4NF	100	100	100
Light anhydrous silicic acid	1	1	1
Magnesium stearate	2	2	2
Total (mg)	217	215	203

(AAPS PharmSciTech 2021, **22**, 262;Table II)

Table 7 Formulation of model matrix tablets prepared from PEO, HPMC and HPC

	PEO PRO	HPMC PRO	HPC PRO	PEO RAN	HPMC RAN	HPC RAN	PEO CLZ	HPMC CLZ	HPC CLZ
Propranolol hydrochloride	114	114	114	—	—	—	—	—	—
Ranitidine hydrochloride	—	—	—	112	112	112	—	—	—
Cilostazol	—	—	—	—	—	—	100	100	100
PEO-18NF	100	—	—	100	—	—	100	—	—
METOLOSE 90SH- 100000SR	—	100	—	—	100	—	—	100	—
HPC-H	—	—	100	—	—	100	—	—	100
Light anhydrous silicic acid	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Magnesium stearate	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Total (mg)	217	217	217	215	215	215	203	203	203

(*Chem. Pharm. Bull.* 2022, **70**, 138–145; Table 1)

2. モデル製剤の溶出試験

米国薬局方 (USP) <711> Dissolution USP apparatus II (パドル法) に準じて、溶出試験 (溶出試験器: RT-J3000、大日本精機) を実施した。シンカーに入れた徐放錠 1 個につき、37°C の試験液 900 mL を用い、パドル回転数を毎分 150 回転とした (n=3)。PEO-4NF モデルについては、試験開始 5 時間後までは 30 分毎、5 時間以降は完全溶解まで 1 時間毎にオートサンプラー (DS-3000, 大日本精機) を用いて、溶出液 5 mL を採取し、孔径 0.22 μm のフィルター (TORAST Disc 親水性 PTFE 25 mm, 島津製作所) でろ過後、初流 4 mL を除く 1 mL を試料溶液とした。その他のモデルについては、試験開始 12 時間後までは 2 時間毎、24 時間後までは 3 時間毎、24 時間以降は完全溶解まで 2 時間毎または 3 時間毎にオートサンプラー (DS-3000, 大日本精機) を用いて、溶出液 5 mL 採取し、孔径 0.22 μm のフィルター (TORAST Disc 親水性 PTFE 25 mm, 島津製作所) でろ過後、初流 4 mL を除く 1 mL を試料溶液とした。

溶出試験液は PRO 及び RAN モデルについては精製水、CLZ モデルについては 0.3% CTAB 水溶液を使用した。

3. API 及び水溶性高分子 2 成分同時分析

試料溶液は以下の UHPLC 条件にて分析した。

UHPLC システム : UltiMate 3000 (Thermo Fisher Scientific, MA, USA)

カラム	: ACQUITY UPLC Protein BEH125Å SEC guard column, 1.7 μm, 4.6 × 30 mm ACQUITY UPLC Protein BEH450Å SEC guard column, 2.5 μm, 4.6 × 30 mm (Waters, MA, USA)
カラム温度	: 25°C
試料室温度	: 25°C
注入量	: 2 μL
移動相	: acetonitrile/water/trifluoroacetic acid (500:500:1)
流速	: 0.2 mL/min
CAD	: 30°C
nebulizer temperature	
CAD gas pressure	: 35 psi
PDA detector	: PRO: 290 nm, RAN: 315 nm, CLZ: 254 nm
wavelength	

4. 溶出率の算出

各成分の溶出率は以下に示す式 (Eq. 1) に従い、算出した⁶⁵。

$$Dissolution\ at\ nth\ sampling\ time\ (\%) = \frac{A_n[V_0 - V_S(n-1)] + \sum_{l=1}^{n-1} A_l V_S}{A_m[V_0 - V_S(m-1)] + \sum_{l=1}^{m-1} A_l V_S} \times 100 \quad \text{Eq. 1}$$

A_n , V_0 , V_S 及び A_m はそれぞれ n 番目の採取試料溶液のピーク面積値、初期の試験液容量 (900 mL)、サンプリング容量 (5 mL) 及び最終サンプリングポイントとなる m 番目の試料のピーク面積値である。

水溶性高分子は保管時の分解に伴う分子量の変化が懸念され、また、CAD クロマトグラムピークの形状が異なる可能性もあることから、標準溶液に基づいた溶出量の算出は正確性に欠けると考えられた。従って、本試験では API と水溶性添加剤の両方について、最終溶出量を 100% として溶出挙動を評価することとした。なお、本算出方法を採用したため、製剤が完全溶解するまで、試験を継続した。

5. 類似性の評価

溶出プロファイルの類似性を比較するため、 f_2 関数を使用した。 f_2 関数を以下に示す (Eq. 2)^{19,20,66}。

$$similarity\ factor: f_2 = 50 \times \log \left[\left\{ 1 + \frac{1}{n} \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2 \right\}^{-0.5} \times 100 \right] \quad \text{Eq. 2}$$

R_t , T_t は各サンプリングポイントにおける基準製剤と試験製剤の平均溶出率、 n は比較するポイント数である。本試験では、基準製剤または試験製剤の平均溶出率が 85% を超える点を

1点含むポイントを使用して f_2 を算出した。 f_2 が 50～100 の値を示す時、2つの溶出プロファイルは類似しているとみなされる。

6. API の放出機構の解析

PEO4 モデル群における API の溶出機構解析のため、Ritger-Peppas model を用いた。本モデル式を以下に示す (Eq. 3) ⁶²。

$$M_t/M_\infty = kt^n \quad \text{Eq. 3}$$

M_t は時間 t までに溶出した API の累積量、 M_∞ は製剤中の API の最大量、 k は速度定数、 n は放出次数である。円形状製剤の場合、API 放出量が 60%未満の時間範囲における薬物放出挙動が n の値によって、区別可能である。 $n \leq 0.45$ のときは Fick 型拡散に従い、時間に依存した放出速度であることを表す。 $0.45 < n < 0.89$ のときは時間に依存した変則的な放出である非 Fick 型拡散を表す。 $0.89 \leq n$ のときは、Super Case-II transport (長時間にわたり、時間に依存しない定常的な API 放出) であることを表す。

Eq. 3 の両辺の対数を取り Eq. 4 式とし、 $\ln t$ を横軸、平均溶出率 ($n=3$) を用いた $\ln(M_t/M_\infty)$ を縦軸としたプロットの直線から、その傾きとして放出次数 n を算出した。

$$\ln(M_t/M_\infty) = \ln k + n \cdot \ln t \quad \text{Eq. 4}$$

【結果】

1. PEO-4NF モデル徐放錠の溶出試験

溶出試験の結果を Fig. 12 に示す。すべてのモデル徐放錠は持続型の溶出プロファイルを示した。Fig. 12 (a) に示す通り、PRO と RAN は 5 時間以内に、CLZ は 8 時間後に完全溶出した。また、Fig. 12 (b) に示す通り、PEO4 PRO モデルからの PEO-4NF の溶出は PEO4 RAN モデルからの PEO-4NF と一致しており、これらは $f_2 = 81$ で高い類似性を示した。一方、PEO4 CLZ モデルからの PEO-4NF の溶出は PEO4 PRO モデルからの PEO-4NF の溶出よりも遅く、類似性は低かった ($f_2 = 41$)。

API と PEO-4NF の 2 成分の溶出挙動をモデル製剤毎に比較すると、PEO4 PRO については PRO と PEO-4NF は一致していた ($f_2 = 81$) (Fig. 12 (c))。一方、PEO4 RAN については RAN の溶出が PEO-4NF の溶出を上回った ($f_2 = 41$) (Fig. 12 (d))。また、PEO4 CLZ では PEO-4NF の溶出が CLZ の溶出を上回った ($f_2 = 36$) (Fig. 12 (e))。

Ritger-Peppas model における放出次数を Table 8 に示す。PRO、RAN、CLZ の放出次数はそれぞれ 0.87、0.72 及び 1.58 となり、PRO 及び RAN は $0.45 < n < 0.89$ に分類される変則的な非 Fick 型拡散を示した。また、CLZ は $0.89 \leq n$ に分類される Super Case-II transport (長時間にわたり時間に依存しない定常的な API 放出) であった。

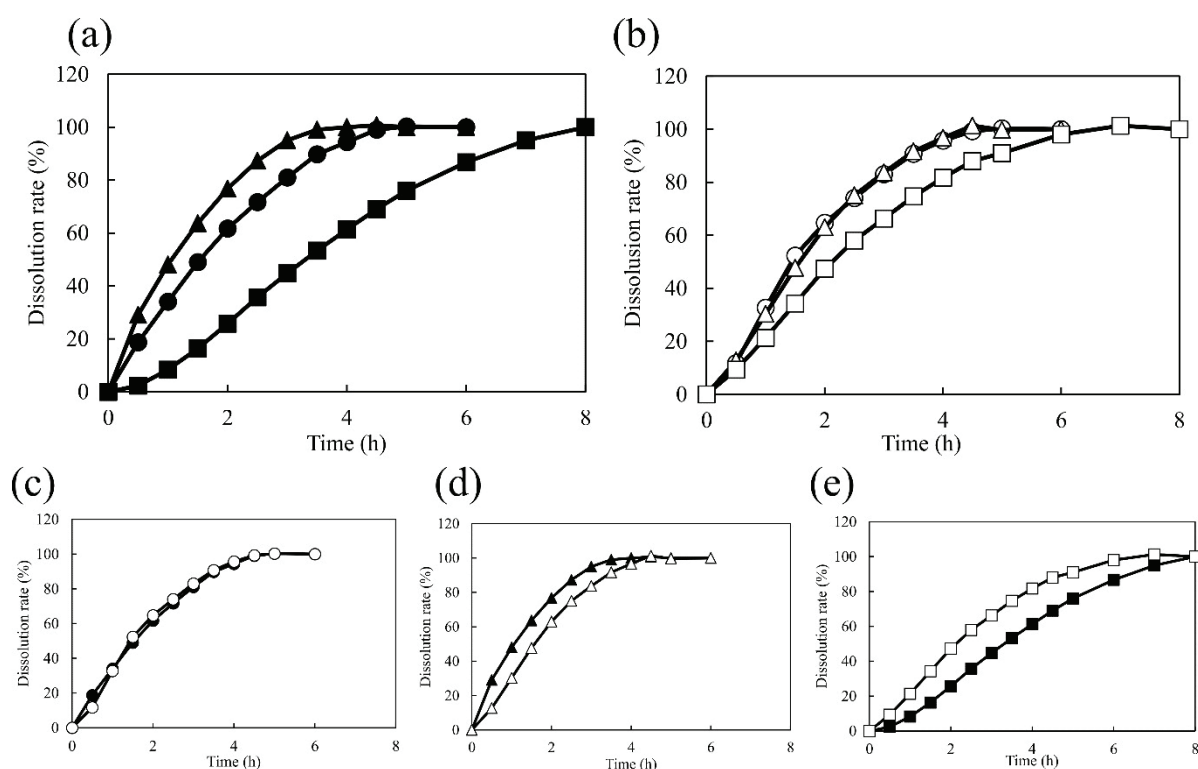


Fig. 12 Dissolution profiles of APIs and polymers from PEO-4 NF model matrix tablets evaluated using USP apparatus II

(a), dissolution profiles of API; (b), dissolution profiles of PEO-4NF; dissolution profiles of API and PEO-4NF from (c) PEO4 PRO, (d) PEO4 RAN and (e) PEO4 CLZ.

Keys; ○, ●: PEO4 PRO, △, ▲: PEO4 RAN, □, ■: PEO4 CLZ. Closed and open symbols indicate API and PEO-4NF, respectively. Each point represents mean \pm S.D. (n = 3).

Table 8 Results of fitting of release data from PEO-4NF model to the Ritger–Peppas model equation

model formulation	n	R ²
PEO4 PRO	0.87	0.9998
PEO4 RAN	0.72	0.9998
PEO4 CLZ	1.58	0.993

2. PEO モデル徐放錠の溶出試験

溶出試験結果を Fig. 13 に示す。Fig. 13 (a) に示す通り、すべてのモデル徐放錠は持続型の溶出プロファイルを示し、PRO と RAN は 8～10 時間以内に溶出し、CLZ は完全溶出まで 24 時間以上を要した。また、Fig. 13 (b) に示す通り、PEO PRO モデル及び PEO RAN モデルからの PEO の溶出は 21 時間で完全溶解し、 $f_2 = 82$ で高い類似性を示した。一方、PEO CLZ モデルからの PEO の溶出は、PEO PRO 及び PEO RAN モデルからの PEO と比較すると、 $f_2 = 51$ (PEO PRO と PEO CLZ の比較) で、類似性はあると判断されるものの、やや遅い溶出挙動を示した。

API と PEO の 2 成分の溶出挙動をモデル毎に比較すると、PEO PRO 及び PEO RAN については、PRO と RAN の溶出が PEO の溶出を著しく上回る結果となった (Fig. 13 (c) (d))。PEO CLZ では、PEO の溶出が CLZ の溶出をわずかに上回った ($f_2 = 60$, Fig. 13 (e))。

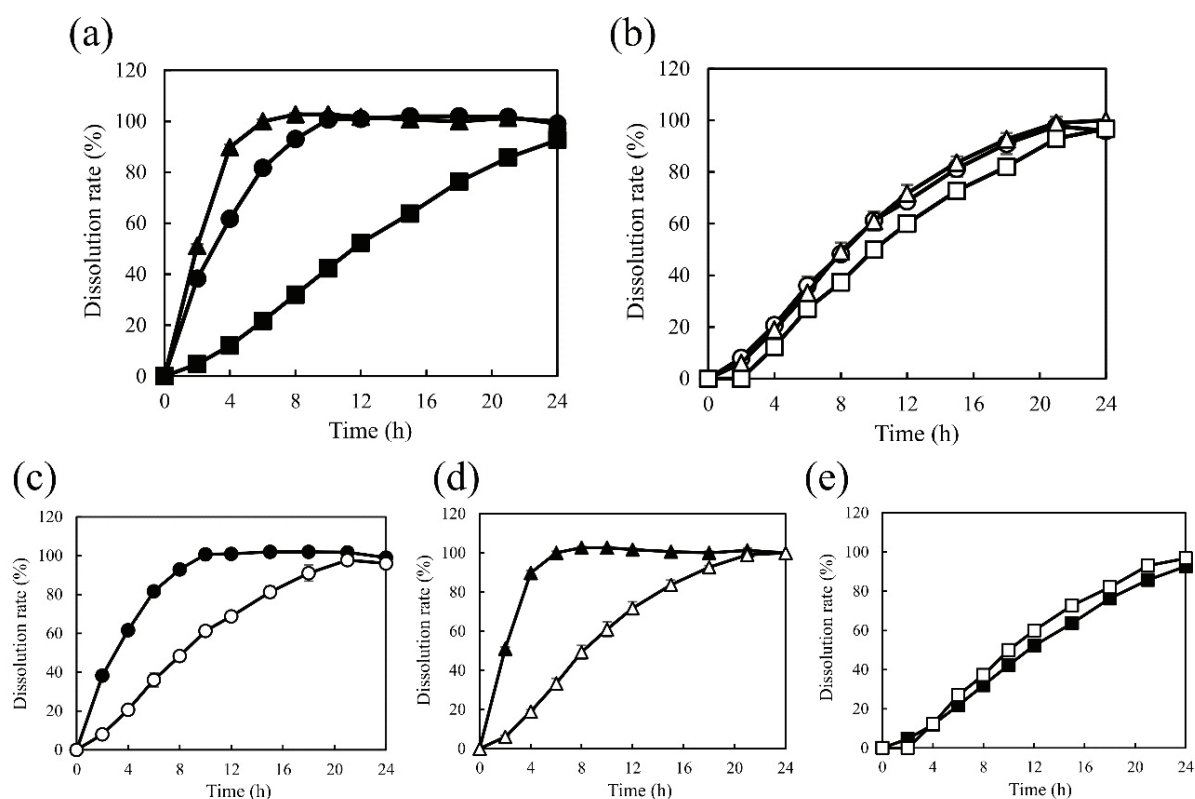


Fig. 13 Dissolution profiles of APIs and polymers from PEO model matrix tablets evaluated using USP apparatus II

(a), dissolution profiles of API; (b), dissolution profiles of PEO; dissolution profiles of API and PEO from (c) PEO PRO, (d) PEO RAN and (e) PEO CLZ.

Keys; ○, ●: PEO PRO, △, ▲: PEO RAN, □, ■: PEO CLZ. Closed and open symbols indicate API and PEO-18NF, respectively. Each point represents mean ± S.D. (n = 3).

(*Chem. Pharm. Bull.* 2022, **70**, 138–145; Fig. 1)

3. HPMC モデル徐放錠の溶出試験

溶出試験結果を Fig. 14 に示す。Fig. 14 (a) に示す通り、HPMC モデル徐放錠においても、持続型の溶出プロファイルが観察された。PRO と RAN は 8~15 時間で完全溶出し、CLZ は完全溶出まで 24 時間以上を要した。また、Fig. 14 (b) に示す通り、すべての HPMC 徐放錠モデルからの HPMC の溶出は高い類似性を示しており、HPMC RAN と HPMC PRO との比較では $f_2 = 67$ 、HPMC RAN と HPMC CLZ の比較においては $f_2 = 74$ であった。

API と HPMC の 2 成分の溶出挙動をモデル毎に比較すると、HPMC PRO 及び HPMC RAN については、PRO と RAN の溶出が HPMC の溶出を著しく上回った結果であった (Fig. 14 (c) (d))。対照的に HPMC CLZ では、HPMC の溶出は CLZ の溶出と一致した ($f_2 = 69$, Fig. 14 (e))。

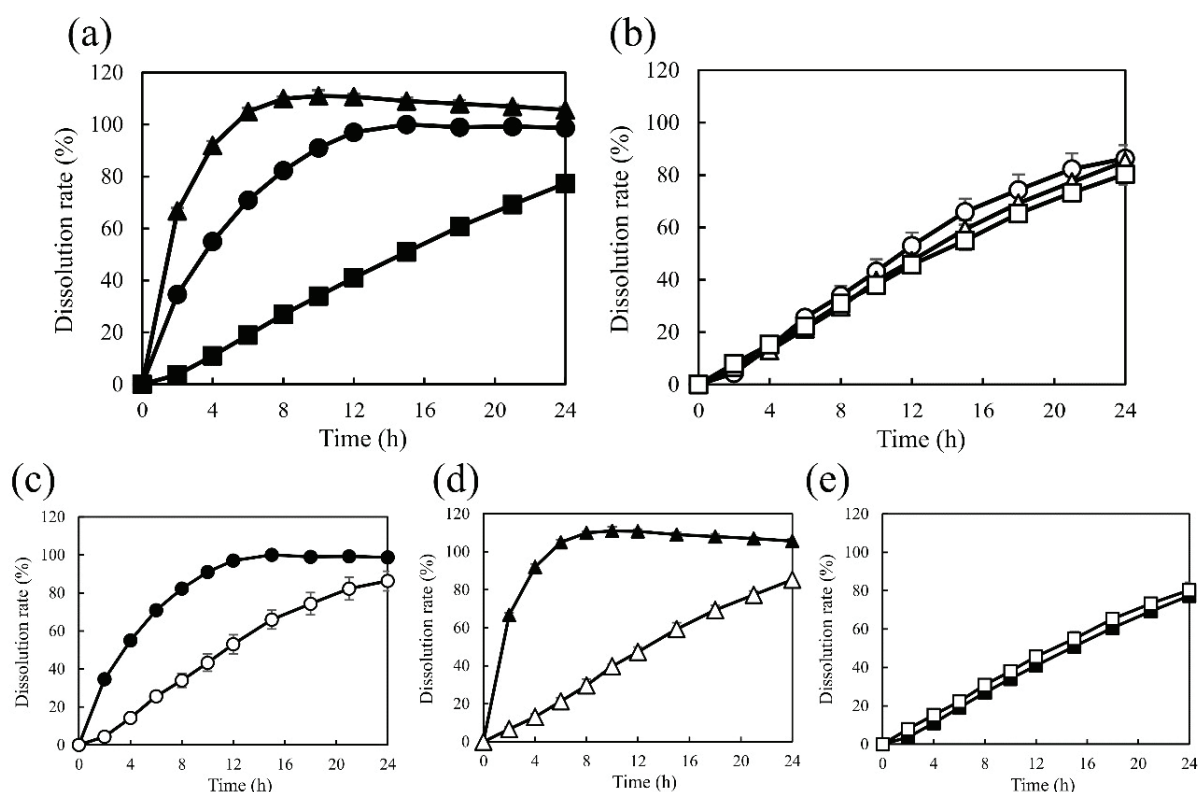


Fig. 14 Dissolution profiles of APIs and polymers from HPMC model matrix tablets evaluated using USP apparatus II

(a), dissolution profiles of API; (b), dissolution profiles of HPMC; dissolution profiles of API and HPMC from (c) HPMC PRO, (d) HPMC RAN, (e) HPMC CLZ.

Keys; ○, ●: HPMC PRO, △, ▲: HPMC RAN, □, ■: HPMC CLZ. Closed and open symbols indicate API and HPMC, respectively. Each point represents mean \pm S.D. ($n = 3$).

(*Chem. Pharm. Bull.* 2022, **70**, 138–145; Fig. 2)

4. HPC モデル徐放錠の溶出試験

溶出試験の結果を Fig. 15 に示す。上述の PEO 徐放錠群及び HPMC 徐放錠群と同様、HPC モデル徐放錠でも持続型の溶出プロファイルを示した。Fig. 15 (a) に示す通り、PRO と RAN は 6～10 時間で完全溶出し、CLZ は完全溶出までに 24 時間以上を要した。また、Fig. 15 (b) に示す通り、HPC PRO 及び HPC RAN モデルからの HPC 溶出は、15～18 時間で完了したのに対して ($f_2=49$)、HPC CLZ モデルからの HPC 溶出は、24 時間以上を要した (HPC RAN と HPC CLZ の $f_2=45$)。

API と HPC の 2 成分の溶出挙動をモデル毎に比較すると、HPC PRO 及び HPC RAN については PRO と RAN の溶出が HPC の溶出を上回った (Fig. 15 (c)(d)) のに対して、HPC CLZ では HPC の溶出が CLZ の溶出を上回った ($f_2=47$, Fig. 15 (e))。

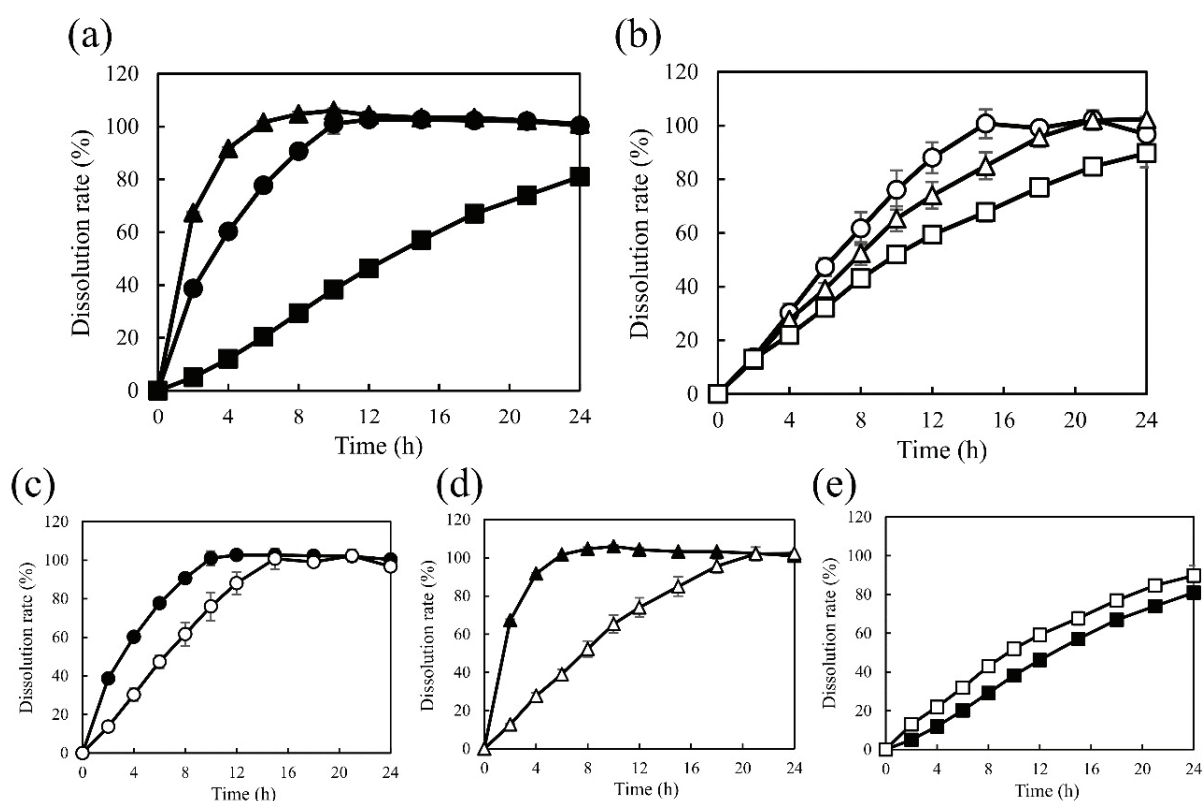


Fig. 15 Dissolution profiles of APIs and polymers from HPC model matrix tablets evaluated using USP apparatus II

(a), dissolution profiles of API; (b), dissolution profiles of HPC; dissolution profiles of API and HPC from (c) HPC PRO, (d) HPC RAN, (e) HPC CLZ.

Keys; ○, ●: HPC PRO, △, ▲: HPC RAN, □, ■: HPC CLZ. Closed and open symbols indicate API and HPC, respectively. Each point represents mean ± S.D. (n = 3).

(*Chem. Pharm. Bull.* 2022, **70**, 138–145; Fig. 3)

【考察】

本節では、第1章で構築したAPIと水溶性高分子添加剤の2成分を迅速かつ同時に定量する分析方法をモデル徐放錠の溶出試験に適用し、APIと水溶性高分子のそれぞれの溶出挙動を確認した。

PEO-4NFを徐放基剤としたモデル群は、第1章第2節で分析法バリデーションを実施した際に想定したモデル徐放錠である。RANの溶出は、その溶解度の高さ故に速い溶出を示すと考えられ、Fig. 12 (a) に示す通り、3製剤の中で最も速い溶出を示した。RANと同様にPROも高い溶解性を示すAPIであり、PROはRANに次いで速い溶出を示した。また、この2製剤のPEO-4NFの溶出プロファイルは $f_2 = 81$ となり、高い類似性を示した (Fig. 12 (b))。3製剤のうち、PEO4 CLZは2成分共に最も低い溶出性を示した。PEO-4NFの溶出プロファイルが2種類に分かれた原因は、共存するAPIの溶解性に起因すると考えられた。PRO、RAN及びCLZの溶解度は、それぞれ0.1 g/mL、1.0 g/mL、3 µg/mLであるが^{48,49}、錠剤中に著しく溶解度が低いCLZのようなAPIが存在する場合、錠剤の濡れ性及び錠剤中への水の浸潤度が低下し、結果的にPEO-4NFの溶出性が低下したと考えられる。同様の結果は、他の手法を用いて水溶性高分子を定量した場合でも観察されている^{36,37}。なお、PRO及びRANではAPI溶解度に差はあるが、その差はPEO-4NFの溶解性に差を生じさせるほど大きくなかったと考えられる。

個々の製剤ごとに2成分を比較すると、PEO4 PROについてはPROとPEO-4NFの溶出プロファイルは高い類似性を示しており、PROはPEO-4NFの浸食に伴うerosion typeの溶出であると判断可能である (Fig. 12 (c))。しかし、PROの溶解度の高さを考慮すると、PROの拡散速度がPEOゲル層の侵食速度と一致するdiffusion typeの溶出とも考えられた。そこで、数理モデルであるRitger-Peppas modelの式を用いてPROの溶出を解析したところ、放出次数は $n = 0.87$ でRANと同じ非Fick型拡散であり、CLZのSuper Case-II transportとは異なる溶出機構であると予想された。従って、PROの溶出はPEOゲル層の侵食速度と一致したdiffusion typeであることが示唆された。PEO4 RANについては、RANがPEO-4NFの溶出を上回っており、RANは錠剤表面に形成されたゲル層を介して拡散するdiffusion typeの溶出であることが示唆された (Fig. 12 (d))。また、PEO4 CLZについては、PEO-4NFの溶出がCLZの溶出を上回っていることから、PEO-4NFの溶出がCLZの溶出の律速となるerosion typeであることが示唆された。PEO-4NFの溶出がCLZの溶出を上回った原因は、PEO-4NFのゲル化とそれに続く溶解が速やかであること、また、溶解度の低いCLZがゲル層中に保持されていることにあると考えられた。水溶性高分子の溶出量がAPIの溶出量を上回る現象は、乾燥減量による定量法でも報告例があり、乾燥後の製剤表面は、残存する不溶性のAPIにより凹凸が生じたと記述されている³⁶。

以上の結果から、前章で構築した分析法を溶出試験に適用することが可能であり、APIと水溶性高分子の溶出プロファイルの比較から、製剤の溶出挙動を解析できることが示唆された。

続いて、本試験法の適用範囲を検証し、2成分のそれぞれの溶出挙動から製剤の溶出機構を

考察することを目的として、異なる粘度グレード及び異なる高分子基剤から調製したモデル徐放錠を用いて検討を行った。

PEO モデル群については、PEO-4NF モデル群と同様に、API の溶出性の大小関係は $RAN > PRO > CLZ$ であった (Fig. 13 (a))。RAN と PRO はその溶解度の高さ故にゲル層を拡散したこと、また、RAN はより溶解性が高いため、拡散速度が速かったと考えられる。PEO に着目すると、PEO CLZ からの PEO の溶出は他の 2 製剤と比較して、やや低い溶出性を示しており、他の 2 製剤では PEO の溶出が一致した (Fig. 13 (b))。この傾向は PEO-4NF モデル群でも認められた。PEO CLZ においても、溶解度の低い CLZ の存在が錠剤内部への水の浸潤を遅らせ、その結果、PEO 溶出の低下を招いたと考えられる。一方で、PEO PRO 及び PEO RAN では、共存する API が十分に高い溶解度を示すため、錠剤の濡れ性と PEO の溶解に影響を与えなかったと考えられた。

個々の製剤ごとに 2 成分を比較すると、PEO PRO と PEO RAN では、API が PEO よりも明らかに高い溶出性を示しており、diffusion type の溶出であることが示唆された。中でも RAN モデルは API と PEO の溶出性の差が最も大きいことから、RAN の拡散が最も速いことが伺えた。一方、PEO CLZ の 2 成分は、PEO が CLZ をやや上回るプロファイルを示しており、CLZ の溶出はゲル層の浸食を律速とする erosion type であることが示唆された。

HPMC モデル群については、PEO モデル群と類似した挙動を示しており、API の溶出性の大小関係は溶解度に依存した順となった ($RAN > PRO > CLZ$) (Fig. 14 (a))。従って、HPMC モデル製剤においても PRO 及び RAN は diffusion type の溶出、CLZ は erosion type の溶出であったことが考えられた (Fig. 14 (c) (d) (e))。3 製剤すべてにおいて、HPMC の完全溶解には 24 時間以上を要した (Fig. 14 (b))。これは検討した高分子基剤の他の中で最も遅い溶出挙動であった。3 製剤における HPMC の溶出は試験開始後 6 時間までは差が認められないが、それ以降では PRO モデル $>$ RAN モデル $>$ CLZ モデルの順でわずかな差が生じた。この差は類似性の指標 (f_2) から判断すると類似であるが (RAN モデルと PRO モデルの $f_2 = 67$ 、RAN モデルと CLZ モデルの $f_2 = 74$)、共存する API の溶解度に依存して HPMC の膨潤・溶解が促進される可能性が示唆された。

水溶性高分子の溶出挙動に最も顕著な変化が認められたのは HPC モデル製剤群であった。HPC モデル製剤は他のモデル群と同様の API の溶出挙動を示した一方で、含有する API 毎の HPC の溶出性の相違は試験開始直後から認められた (Fig. 15 (b))。HPC の溶出順は PRO モデル $>$ RAN モデル $>$ CLZ モデルであり、HPMC の溶出傾向と同様であったことに加えて、HPC モデルでは、類似性の指標 (f_2) としても非類似であった (RAN モデルと PRO モデルの $f_2 = 49$ 、RAN モデルと CLZ モデルの $f_2 = 45$)。

RAN モデルからの HPC の溶出がこのような挙動を示した要因は、浸食を受ける錠剤最外層のゲル層の厚さと強度が関係したためと考えられる (Fig. 16)。溶解度が高い RAN を含む錠剤では、swelling front と diffusion front が急速に内側まで進行し、RAN の拡散・溶出を引き起こすとともに、厚いゲル層が速やかに形成される。一方、HPC PRO の場合、錠剤への水の拡散 (浸入) が HPC RAN より遅く swelling front と diffusion front の内側への進行とゲル層の形成が同時に進行し、ゲル層の厚さは HPC RAN に比べて薄かったと予想される。また、ゲル

層中には拡散する PRO も共存していることから、ゲル純度の低下がゲル強度の低下に起因したと考察した。なお、HPC CLZ については、swelling front の進行自体が著しく遅いことから、ゲル層形成とその浸食も大幅に遅延したと考えられる。

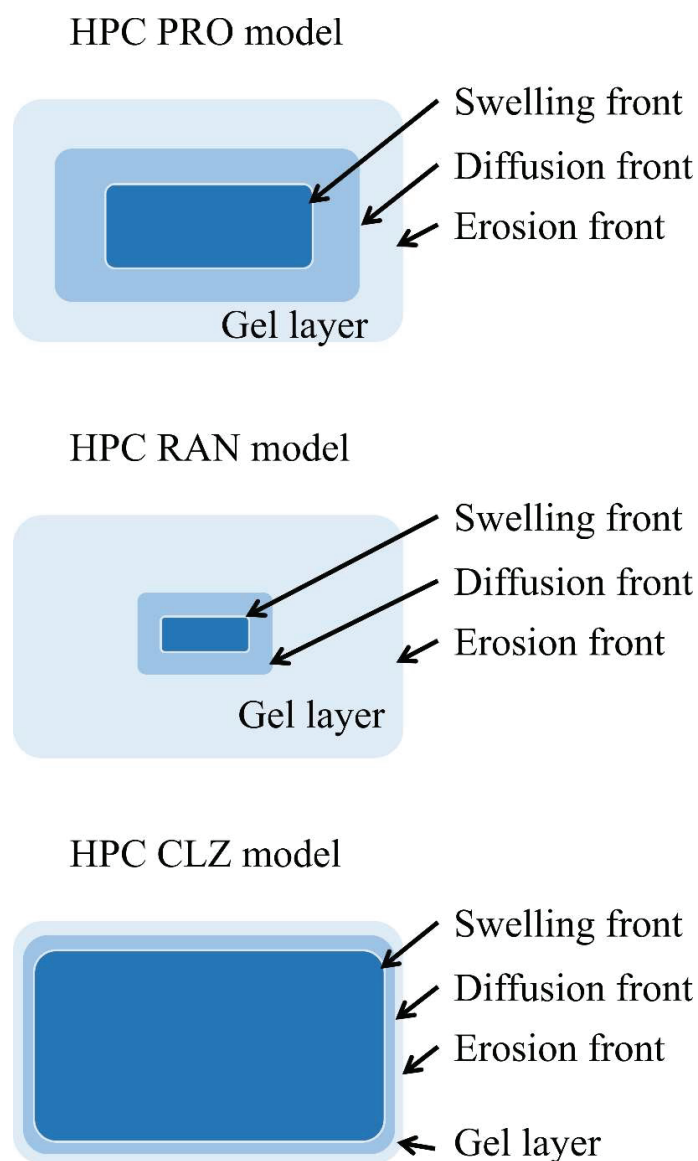


Fig. 16 Predicted dissolution mechanism of the HPC model tablets

本節の検証では、複数の水溶性高分子を用いたモデル徐放錠に 2 成分同時定量法を適用することで得られた溶出プロファイルから、溶出機構を考察することができた。しかし、実際の開発品・上市品では放出制御のため、1 錠中に複数の粘度グレードの水溶性高分子を含有する場合がある^{36,63,67}。これらが試験対象となる場合、個々の成分を分離するための異なる排除限界を有する SEC カラムの組み合わせや長いカラムが必要となることが予想される。分析に要する時間が長くなることは、本法の長所である高速分析を損なう要因とはなるが、複数の水溶性高分子を対象とした溶出機構解析にも応用できると考えられる。また、ハイドロゲルマトリックス徐放錠における API の放出プロセスは、API の粒子径、API の pKa、溶出試験液

の pH、API と水溶性高分子の固有の溶解度、API の充填量など、多くの因子に影響されると考えられる。今後の研究では、これらの問題を議論できるような適切なモデル製剤を用いた検証が必要であり、本分析法の意義や有用性をさらに明らかにする必要があると考えられる。

第 2 節 CLZ モデル徐放錠の溶出メカニズムの解析

【緒言】

前節では第 1 章で構築した分析法を溶出試験に適応し、各種モデル徐放錠における溶出機構を考察した。この中で CLZ を含有する製剤については、CLZ の溶解度の低さと水溶性高分子の溶出挙動から *erosion type* の溶出であることが示唆された。当初、*erosion type* の溶出の場合、API と水溶性高分子の溶出率は完全に一致すると想定していたが、多くの CLZ モデル徐放錠について徐放基剤となる水溶性高分子の溶出が CLZ の溶出を上回る結果を得た。CLZ のように溶解度の低い API を含有する徐放錠については、乾燥減量法に基づき水溶性高分子を定量した報告例においても同様の挙動が認められており、その要因は先行して高分子が溶解したと考察されている³⁶。本節では、CLZ モデルで観察された溶出挙動の詳細について検証した。

【実験材料】

1. 試薬

試薬は前章の実験材料に準じた。

【実験方法】

1. モデル徐放錠の調製

モデル徐放錠は Table 7 に示した処方に基づき、前節と同様の方法で調製した。

2. モデル徐放錠の溶出試験

前節に記載した試験方法に準じた。

3. API 及び水溶性高分子 2 成分同時分析法での分析

前節に記載した試験条件に準じた。

4. 外観観察

PEO モデル群、HPMC モデル群及び HPC モデル群について溶出試験時の外観観察を行った。溶出試験中の徐放錠を容器からガラスシャーレ上に取り出した後、デジタルカメラ (TG-6、Olympus) で写真を撮影した。CLZ モデルについては、デジタルマイクロスコープ (VHX-7000、Keyence) で観察し、ゲル層中の白色凝集体の大きさを測定した。

5. ラマン分光分析

CLZ モデル徐放錠のゲル層中に観察される白色凝集体の成分分析のため、ラマン分光分析 (inVia Raman microscope system、Renishaw Plc.) を実施した。ゲル層から採取した白色凝集体をスライドガラスに取り、検体とした。対物レンズ倍率は 20 倍、励起レーザーは波長 785 nm、出力 300 mW とした。

6. 粒度分布測定

レーザー回折式粒度分布測定装置 (SALD-3000、島津製作所) を用いて、各種水溶性高分子添加剤 (PEO-18NF、METOLOSE 90SH-100000SR、HPC-H) の粒子径を測定した。分散溶媒は 1% レシチン含有ヘキサンを使用した。

【結果】

1. CLZ モデルの外観観察

前節の溶出試験の結果より、CLZ モデルにおいては水溶性高分子の溶出が CLZ の溶出を上回る結果となった (Fig. 13 (e), Fig. 14 (e), Fig. 15 (e))。この溶出挙動の詳細を検証するため、PEO モデル、HPMC モデル、HPC モデルについて、溶出試験中の錠剤の外観を経時的に観察した。

溶出試験開始から 8 時間後の錠剤の観察結果を Fig. 17 に示す。CLZ を含有する徐放錠のゲル層中には白色の凝集体が認められた (Fig. 17 (c), (f), (i))。対照的に、PRO 及び RAN を含有するモデル徐放錠では、ゲル層中に白色の凝集体は認められなかった (Fig. 17 (a), (b), (d), (e), (g), (h))。試験開始から 8 時間後の CLZ 溶出率はおよそ 30%程度であり、同時間での PRO 及び RAN の溶出は完了している。そこで、PRO 及び RAN の溶出率が 30%程度となる時間の錠剤外観についても観察した。結果を Fig. 18 及び Fig. 19 に示す。1 時間後及び 3 時間後の PRO モデル及び RAN モデルのいずれにおいても、ゲル層中に白色の凝集体は認められなかった。

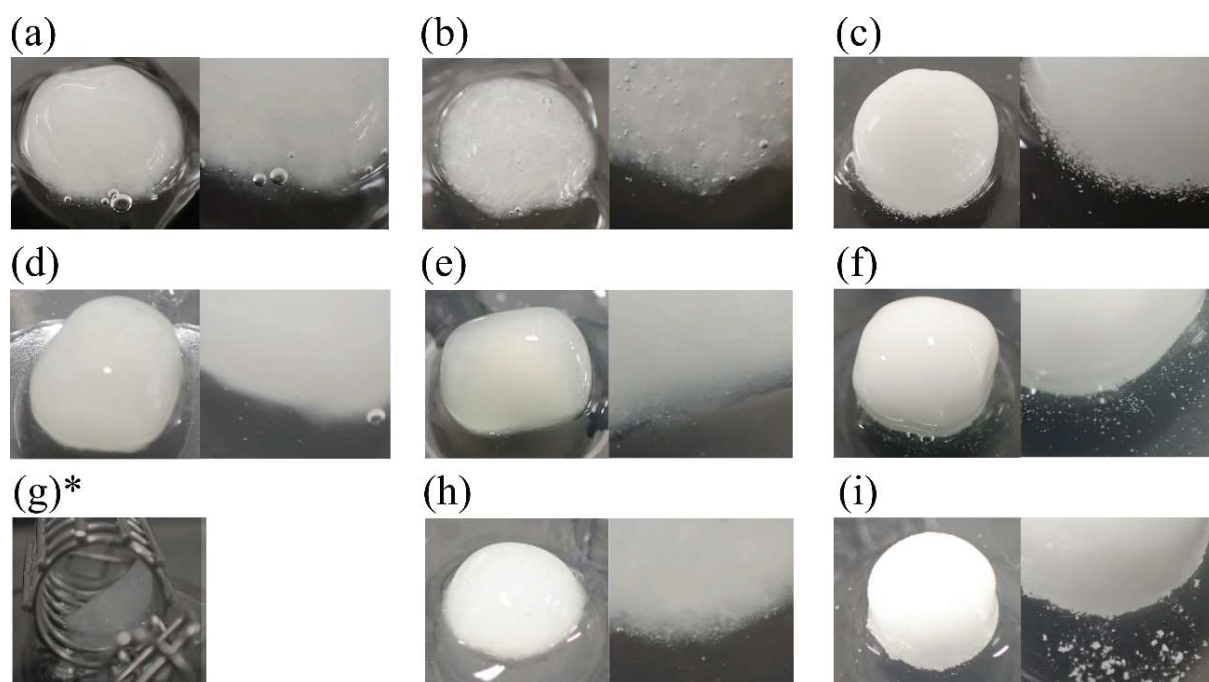


Fig. 17 Photographs of tablets taken 8 h after the start of dissolution tests

Photographs on the right-hand side show enlarged images of tablet interfaces.

(a); PEO PRO, (b); PEO RAN, (c); PEO CLZ, (d); HPMC PRO, (e); HPMC RAN, (f); HPMC CLZ, (g); HPC PRO, (h); HPC RAN, (i); HPC CLZ

*: HPC PRO tablets were disintegrated to form soft gel, as shown in the photograph, allowing no removal from the sinker.

(*Chem. Pharm. Bull.* 2022, **70**, 138–145; Fig. 4)

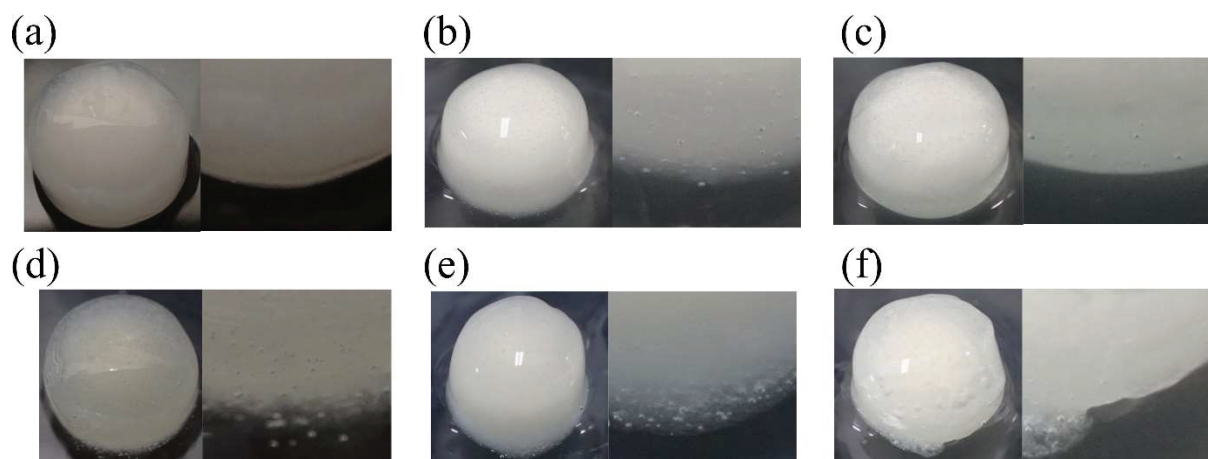


Fig. 18 Photographs of tablets taken 1 h after the start of dissolution tests

Photographs on the right-hand side show enlarged images of tablet interfaces.

(a); PEO PRO, (b); HPMC PRO, (c); HPC PRO, (d); PEO RAN, (e); HPMC RAN, (f); HPC RAN.

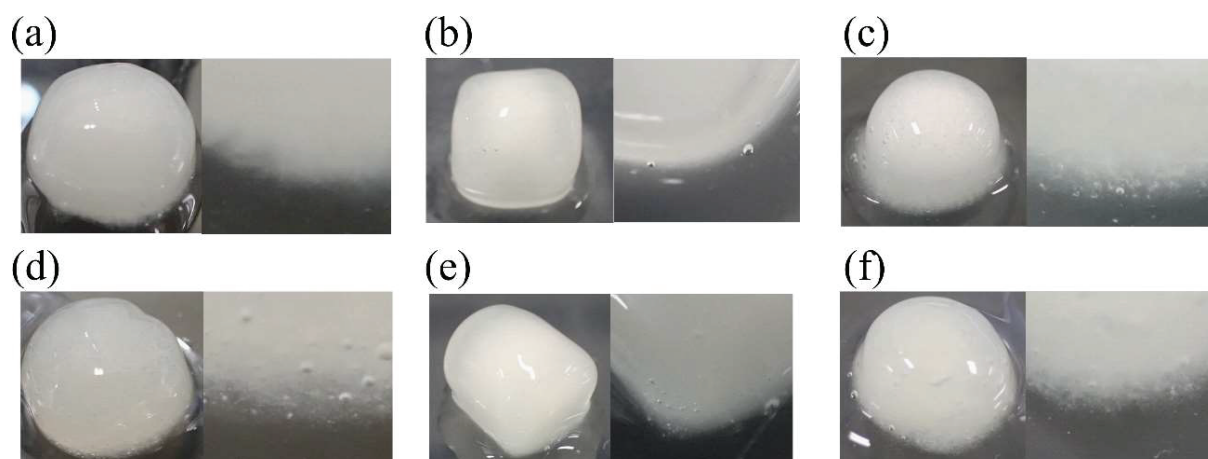


Fig. 19 Photographs of tablets taken 3 h after the start of dissolution tests

Photographs on the right-hand side show enlarged images of tablet interfaces.

(a); PEO PRO, (b); HPMC PRO, (c); HPC PRO, (d); PEO RAN, (e); HPMC RAN, (f); HPC RAN.

(*Chem. Pharm. Bull.* 2022, **70**, 138–145; Fig. 5)

2. CLZ モデルにおけるゲル層中の白色凝集体の観察

CLZ モデルのゲル層中に観察された凝集体をデジタルマイクロスコープで観察し、その大きさを測定したところ、PEO18 CLZ で 296 μm 、HPMC CLZ で 140 μm 、HPC CLZ で 704 μm であった (Fig. 20)。

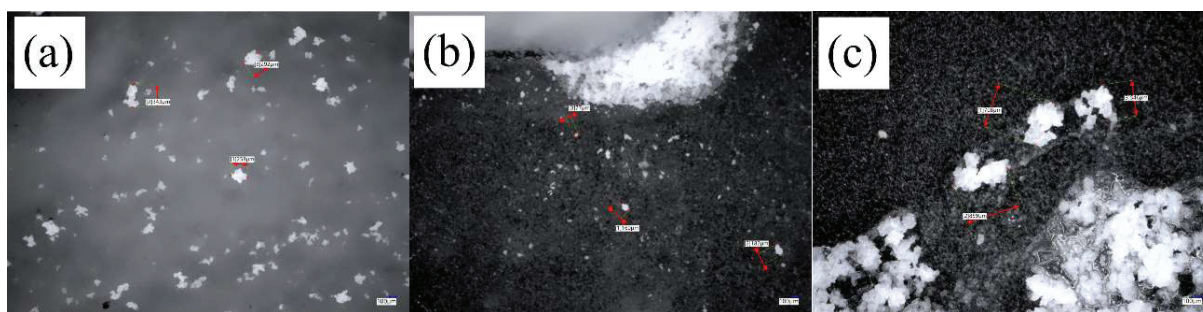


Fig. 20 Aggregates observed in the gel layer of PEO CLZ, HPC CLZ, and HPMC CLZ
(*Chem. Pharm. Bull.* 2022, **70**, 138–145; Fig. 6)

Table 9 Size of aggregates observed in the gel layers of PEO CLZ, HPC CLZ, and HPMC CLZ

Sample	Measurement results (μm)			
	1	2	3	mean
PEO CLZ	253	343	292	296
HPMC CLZ	160	182	77	140
HPC CLZ	708	859	546	704

3. 白色凝集体の成分分析

CLZ モデルのゲル層中に観察された凝集体の成分を同定するため、ラマン分析を行った。得られたラマンスペクトルを Fig. 21 に示す。すべてのモデル徐放錠で観察された白色凝集体は CLZ 原薬のラマンスペクトルと一致し、白色凝集体は CLZ であることが明らかとなった。

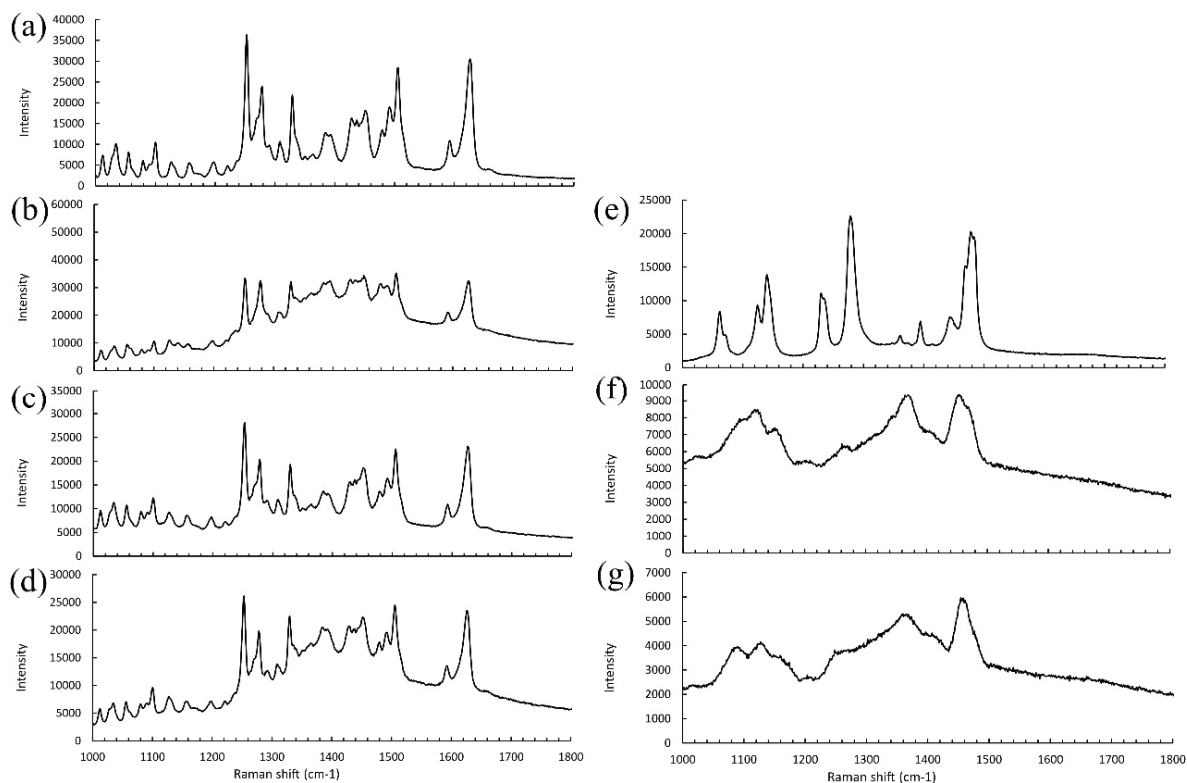


Fig. 21 Raman spectra of white components in the gel layers of CLZ models

(a); CLZ; white components from (b) PEO CLZ, (c) HPMC CLZ, (d) HPC CLZ, (e); PEO, (f); HPMC, (g); HPC.

(*Chem. Pharm. Bull.* 2022, **70**, 138–145; Fig. 7)

4. 水溶性高分子の粒子径

モデル徐放錠の調製に使用した各種水溶性添加剤の原料粉体の粒度分布を測定した。結果を Table 10 に示す。平均粒子径は PEO で 133 μm 、HPMC で 90 μm 、HPC で 196 μm であった。

Table 10 Particle size distributions of polymer bulk powders

Sample	Mean particle diameter (μm)	D10 (μm)	D50 (μm)	D90 (μm)
PEO	133	58	128	323
HPMC	90	31	98	256
HPC	196	95	213	325

【考察】

研究開始当初は、徐放製剤の erosion type 溶出の場合、API と水溶性高分子の溶出率は一致すると想定していた。しかし、前節で記述した CLZ モデル徐放錠では、徐放基剤となる水溶性高分子の溶出が CLZ の溶出を上回った。また、2 成分の溶出プロファイルの乖離の程度は徐放基剤となる水溶性高分子が異なるモデル製剤毎に相違が観察されたことから、これらの差が何に起因するかを検証した。

溶解度が低い API を含有する徐放錠については、基剤高分子の溶出量が API の溶出量を上回るという同様の現象が報告されており、その要因は先行して高分子が溶解し、ゲルクラスターの剥離の可能性は低いと考察されている³⁶。本製剤においても同様の現象が認められるかを確認するため、PEO モデル、HPMC モデル、HPC モデルの計 9 種類の製剤の溶出試験中の各容器内を観察した。ゲル層のゲルの一部が一定の大きさを保って剥離するのであれば、溶出試験の容器中に小さなゲルの浮遊物が認められると予想し、試験時間中、容器内の経時的な目視による観察を行った。しかし、ゲルがクラスターとして剥離したような浮遊物はいずれの試験液中にも確認できず、CLZ モデルではわずかに微小な白色浮遊物を認めた。また、錠剤表面についても経時的に観察したところ、いずれの高分子を用いた製剤についても、CLZ を含有する製剤でのみゲル層中に白色の凝集体を認め、錠剤が浸食を受けてもそれらが消失することはなかった。ゲル層中の凝集体と容器内のわずかな浮遊物を CLZ であると想定し、ゲル層から採取した凝集体につきラマン分光分析を行った結果、CLZ と同定された。

CLZ 凝集体はモデル毎に異なる大きさを示しており、凝集体の中には打錠末混合時に使用した CLZ 原薬の粒子径（平均粒子径 23 μm ）よりも粗大なものを含むことが確認された。これらの結果から、ゲル層から剥離したのは CLZ 凝集体であることが示唆された。さらに、錠剤表面（ゲル層最外層）から離脱した後、凝集体化したことにより溶解速度が低下したために、速やかに溶解せず、CLZ の溶出挙動が高分子を下回った可能性が考えられた。

モデル毎に凝集体の大きさが異なった原因は、水溶性高分子添加剤の原料粉体の粒子径の相違に基づくと考えられる。本研究で用いたモデル徐放錠は、物理混合及び直接打錠で製しているため、製剤中の各成分の粒子径差が大きいほど、各成分の偏析が生じやすいと考えられる。水溶性高分子添加剤の粒子径が大きく、徐放錠中で CLZ の偏析が顕著に生じれば、錠剤に水が浸透し、ゲル層が形成された際に CLZ の大きな凝集体が形成されやすい。一方、水溶性高分子添加剤の粒子径が小さければ、CLZ の偏析が生じにくいため、ゲル層が形成された際、凝集体を形成しにくいと考えられる（Fig. 22）。PEO、HPMC、HPC の平均粒子径の序列は、HPMC < PEO < HPC であり、本序列はそれらを用いて製したモデル徐放錠で観察された CLZ 凝集体の大きさの序列と一致した。平均粒子径に加えて、10%粒子径（D10）に関する序列も同様で、HPC の D10 は PEO、HPMC の 2~3 倍大きいことが示された。90%粒子径（D90）と D10 との相違を指標に、粒子径の分布幅を比較すると、HPC : 129 μm , PEO : 265 μm , HPMC: 225 μm であった。つまり、HPC の粒子径の分布は狭いものの、粒子全体の粒子径が大きいために、大きな凝集体が生成したと考えられる。さらに、2 成分の溶出挙動の乖離

の程度についても、序列は同じであった。例えば、試験開始から 15 時間後の 2 成分の溶出率の差は、HPMC モデルで 4%、PEO モデルで 9%、HPC モデルで 11%であった。以上の結果から、水溶性高分子添加剤の粒子径がゲル層中で生成する CLZ 凝集体の大きさに影響を及ぼし、さらに 2 成分の溶出に影響したと考えられた。水溶性高分子基剤の粒子径が API の溶出挙動に影響を及ぼすとする検証報告もあり、本結果は既知の現象と一致する^{68,69}。なお、PRO 及び RAN モデルについては、異なる基剤間でも API の溶出挙動に差が生じなかった。これは、錠剤への水の侵入とともに、ゲル層中で API が速やかに溶解・拡散するため、水溶性高分子基剤の粒子径に大きく影響を受けなかったと考えられる。

以上の検証から、2 成分の溶出挙動を比較することで、diffusion type/erosion type の識別・可視化が可能であるだけでなく、erosion type 溶出に対する水溶性高分子添加剤の粒子径の影響に関する重要な情報が得られることが明らかとなった。

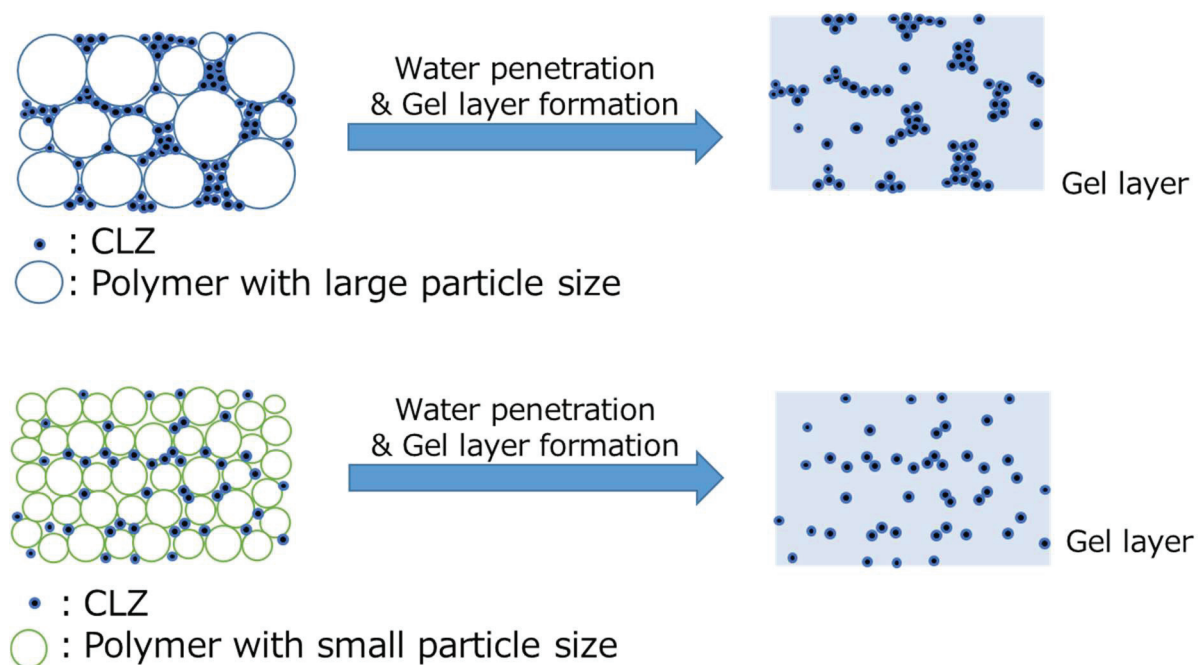


Fig. 22 The mechanism of CLZ aggregates formation in the gel layer

結論

本研究では、添加剤として汎用される水溶性高分子を用いた徐放錠をモデル製剤として、API と水溶性高分子の 2 成分を迅速かつ同時に定量する分析法の構築を目的とした。また、構築した分析法を用いて、溶出試験における API と水溶性高分子の溶出挙動について評価し、API の溶出機構について検証した。

第 1 章 API 及び水溶性高分子添加剤の同時定量法の構築

API 及び水溶性高分子の定量法の構築のため、API として CLZ、水溶性高分子として分子量 100 kDa の HPMC (METOLOSE 90SH-100SR) を含むモデル徐放錠を想定し、検証した。CLZ はフローセルによる UV 検出器を用いる自動定量とし、高分子定量には CAD の利用を検討した。SEC カラムを用いた高速液体クロマトグラフィを用いて、試料溶液を分析した結果、CAD による METOLOSE 90SH-100SR の検出は良好であったが、1 検体に 20 分の分析時間を要し、多検体を処理する分析法としては不適切と考えられた。そこで、より迅速な分析法とするため、超高速液体クロマトグラフィとタンパク質分析用 SEC カラムを用い、さらに、API 検出用の PDA 検出器と CAD を併用して、2 成分の同時定量の可能性を検討した。その結果、CLZ と METOLOSE 90SH-100SR の分離及び検出が可能となり、分析時間の短縮を達成した。本分析法が他の水溶性高分子に適応できるかどうかの検証を目的として、高粘度グレード（分子量 5,000 kDa）の PEO を用いたところ、PEO 由来のピークは認められず、検出が不可能であった。その原因は、SEC カラムの排除限界を上回る分子量の PEO が検出器内へ短時間に大量に流入することにより、スプレードライ効率が悪くなり、大きな液滴のまま検出器外へ排出され、荷電化に至らなかったことにあると考察した。そこで、SEC カラムにより対象高分子を十分に保持、分離する必要があると考え、高分子量用 SEC カラムを追加し、検証した。その結果、PEO の検出が可能となり、分析法を改良することができた。以上の検討結果を踏まえ、本 UHPLC システムを 2 成分の同時分析法として確定した。さらに、本法が汎用的な水溶性高分子の検出に応用できることを確認し、分析法バリデーションを実施することで本分析法の妥当性を確認した。

第 2 章 ハイドロゲルマトリックス型モデル徐放錠からの薬物溶出機構の解析

第 1 章で提示した分析法をモデル徐放錠の溶出試験に適応し、各製剤の溶出挙動を解析した。モデル製剤として、API に CLZ、高溶解性の PRO 及び RAN をそれぞれ含有し、徐放基剤として PEO (PEO-4NF) を用いた 3 種類の製剤を用いた。溶出試験の結果、各製剤は含有する API の溶解度に依存した溶出挙動を示した。また、PRO の溶出速度が PEO と一致することが明らかとなった。RAN は PEO のゲル層中の拡散を律速とする溶出(diffusion type release)であることが示された一方、CLZ は PEO の浸食による溶出(erosion type release)を示すことが明らかとなった。次に、高粘度グレードの PEO (PEO-18NF)、HPMC、HPC を用いた製剤群について評価したところ、上述の結果と同様に、水溶性の PRO、RAN はいずれの製剤においても典型的な著しい diffusion type 溶出を示し、難水溶性の CLZ は erosion type 溶出を示した。

CLZ を含有するモデル徐放錠では、高分子基剤の溶出が CLZ よりも速いという現象が共通

して観察された。本現象の詳細を検討するために、ラマン分光分析、外観観察及び成分の粒子径測定により検証した結果、錠剤最外層に形成されるゲル層内に CLZ の凝集体が生成していることが明らかとなった。また、凝集体の大きさに依存して、2 成分の溶出の乖離が生じる可能性が示唆された。同時に、生成する CLZ の凝集体の大きさは、高分子の粒子径に依存すると考えられる結果を得た。本検討で確認した API の *diffusion type* 及び *erosion type* の溶出挙動は、その溶解度に依存するという公知の事実と一致することが確認できたことに加え、API と高分子の同時定量によって、形成したゲル層からの API の拡散及び浸食の程度や製剤界面における溶出挙動を考察するための有用な情報を得ることができた。

本研究では、迅速かつ簡便に API と水溶性高分子を同時定量する分析法を構築した。また、ハイドロゲルマトリックス型モデル徐放錠の溶出試験に本法を適応し、溶出機構の考察に有用な情報を得ることができた。本法はハイドロゲルマトリックス型徐放剤をはじめ、水溶性高分子を含有する製剤の処方設計において、様々な情報を得るための手段として有効に活用されることが期待される。

謝辞

本研究の機会を頂き、多くの御指導、御鞭撻を賜りました、京都薬科大学薬剤学分野 山本昌教授、神戸薬科大学製剤学研究室 坂根 稔康教授に新甚なる謝意を表します。

また、本研究を遂行するにあたり、貴重な御指導、御助言を賜りました、京都薬科大学薬剤学分野 勝見 英正准教授、東京理科大学生物薬剤学研究室 草森 浩輔助教に心より御礼申し上げます。

本研究を遂行するに当たり、多大なる御理解、御協力ならびに御助言を賜りました、神野 淳一氏、喜羽 秀之氏、吉村 元靖氏、水永 大輔氏、坂本 菜沙氏をはじめとする大塚製薬株式会社 製剤研究所の諸氏に心より感謝致します。

最後に、研究に専心できる環境と時間を与えてくれた夫と小さな娘に心から感謝致します。

引用文献

1. 第十七改正日本薬局方 製剤総則 (6)
2. Aleksandar A., Dreu R., Gašperlin M., Planinšek O. Mini-tablets: a contemporary system for oral drug delivery in targeted patient groups. *Expert Opin. Drug Deliv.* **12**, 65–84 (2015).
3. Ghosh T., Ghosh A., Prasad D. A review on new generation orodispersible tablets and its future. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* **3**, 1–7 (2011).
4. Lechner A., Simonoff J. S., Harrington L. Color–emotion associations in the pharmaceutical industry: Understanding universal and local themes. *Col. Res. Appl.* **37**, 59–71 (2012).
5. Kokott M., Lura A., Breitreutz J., Wiedey R. Evaluation of two novel co-processed excipients for direct compression of orodispersible tablets and mini-tablets. *Eur. J. Pharm. Sci.* **168**, 122–130 (2021).
6. Shou W. Z. Current status and future directions of high-throughput ADME screening in drug discovery. *J. Pharm. Anal.* **10**, 201–208 (2020).
7. Mishra D. K., Dhote V., Bhargava A., Jain D. K., Mishra P. K. Amorphous solid dispersion technique for improved drug delivery: basics to clinical applications. *Drug Deliv. Transl. Res.* **5**, 552–565 (2015).
8. Cid A. G., Simonazzi A., Palma S. D., Bermúdez J. M. Solid dispersion technology as a strategy to improve the bioavailability of poorly soluble drugs. *Ther. Deliv.* **10**, 363–382 (2019).
9. Sun Y., Zhu L., Wu T., Cai T., Gunn E. M., Yu L. Stability of amorphous pharmaceutical solids: crystal growth mechanisms and effect of polymer additives. *AAPS J.* **14**, 380–8 (2012).
10. Simone E., Cenzato M. V., Nagy Z. K. A study on the effect of the polymeric additive HPMC on morphology and polymorphism of ortho-aminobenzoic acid crystals. *J. Cryst. Growth* **446**, 50–59 (2016).
11. Inactive Ingredients Database Current Update (10/21/2021) U.S.FOOD and DRUG ADMINISTRATION. <https://www.fda.gov/drugs/drug-approvals-and-databases/inactive-ingredients-database-download>
12. List of Drug Master Files (DMFs) Current Update (10/08/2021) U.S.FOOD and DRUG ADMINISTRATION. <https://www.fda.gov/drugs/drug-master-files-dmfs/list-drug-master-files-dmfs>
13. Debotton N., Dahan A. Applications of polymers as pharmaceutical excipients in solid oral dosage forms. *Med. Res. Rev.* **37**, 52–97 (2017).
14. Mašková E., Kubová K., Raimi-Abraham B. T., Vllasaliu D., Vohlídalová E., Turánek J., Mašek J. Hypromellose - A traditional pharmaceutical excipient with modern applications in oral and oromucosal drug delivery. *J. Control. Release* **324**, 695–727 (2020).
15. Dahl T. C., Calderwood T., Bormeth A., Trimble K., Piepmeier E. Influence of physico-chemical properties of hydroxypropyl methylcellulose on naproxen release from sustained release matrix tablets. *J. Control. Release* **14**, 1–10 (1990).

16. Alvarez-Lorenzo C., Castro E., Go'mez-Amoza J. L., Mart'inez-Pacheco R., Souto C., Concheiro A. Intersupplier and interlot variability in hydroxypropyl celluloses: implications for theophylline release from matrix tablets. *Pharm. Acta Helv.* **73**, 113–120 (1998).
17. Yu L. X., Amidon G., Khan M. K., Hoag S. W., Polli J., Raju G. K., Woodcock J. Understanding pharmaceutical quality by design. *AAPS J.* **16**, 771–783 (2014).
18. ICH harmonised tripartite guideline :pharmaceutical development Q8(R2), Current Step 4 version dated August 2009.
<https://database.ich.org/sites/default/files/Q8%28R2%29%20Guideline.pdf>
19. FDA Guidance for industry: immediate release solid oral dosage forms scale-up and postapproval changes: Chemistry, manufacturing, and controls, in vitro dissolution testing, and in vivo bioequivalence documentation. NOVEMBER 1995. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/supac-ir-immediate-release-solid-oral-dosage-forms-scale-and-post-approval-changes-chemistry>
20. FDA Guidance for industry: SUPAC MR: Modified release solid oral dosage forms: scale-up and post-approval changes: chemistry, manufacturing and controls, in vitro dissolution testing, and in vivo bioequivalence. OCTOBER 1997. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/supac-mr-modified-release-solid-oral-dosage-forms-scale-and-postapproval-changes-chemistry>
21. FDA Guidance for industry: waiver of *in vivo* bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system. December 2017. <https://www.gmp-compliance.org/files/guidemgr/UCM070246.pdf>
22. Kataoka M., Sugano K., da Costa Mathews C., Wong J. W., Jones K. L., Masaoka Y., Sakuma S., Yamashita S. Application of dissolution/permeation system for evaluation of formulation effect on oral absorption of poorly water-soluble drugs in drug development. *Pharm. Res.* **29**, 1485–94 (2012).
23. Miyaji Y., Fujii Y., Takeyama S., Kawai Y., Kataoka M., Takahashi M., Yamashita S. Advantage of the dissolution/permeation system for estimating oral absorption of drug candidates in the drug discovery stage. *Mol. Pharm.* **13**, 1564–74 (2016).
24. Borbás E., Nagy Z. K., Nagy B., Balogh A., Farkas B., Tsinman O., Tsinman K., Sinkó B. The effect of formulation additives on in vitro dissolution-absorption profile and *in vivo* bioavailability of telmisartan from brand and generic formulations. *Eur. J. Pharm. Sci.* **1**, 310–317 (2018).
25. Nokhodchi A., Raja S., Patel P., Asare-Addo K. The role of oral controlled release matrix tablets in drug delivery systems. *Bioimpacts* **2**, 175–187 (2012).
26. Miller-Chou B. A., Koenig J. L. A review of polymer dissolution. *Prog. Polym. Sci.* **28**, 1223–1270 (2003).
27. Di L., Kerms E.H. Solubility Issues in Early Discovery and HTS. In *Solvent Systems and Their Selection in Pharmaceutics and Biopharmaceutics*; Augustijns P., Brewster M.E., Eds.; Pharmaceutical Aspects VI; AAPSPRESS; 2007; pp 111–136.

28. *Formulating Poorly Water Soluble Drugs*; second edition; Williams III R. O., Watts A. B., Miller D. A. Eds.; AAPS Advances in the Pharmaceutical Sciences Series 22; Springer Nature: Switzerland, 2016; pp vii–ix
29. Baek N., Oh G. H., Park C., Tran T. T. T., Park Y. J., Oh E., Le H., Tran T. T. D., Park J. B., Lee B.J. Reprecipitation of poorly water-soluble cilostazol crystals using adsorbing carriers for enhanced dissolution and physicochemical modification. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* **43**, 477–486 (2018).
30. Beig A., Miller J. M., Lindley D., Dahan A. Striking the optimal solubility-permeability balance in oral formulation development for lipophilic drugs: maximizing carbamazepine blood levels. *Mol. Pharm.* **14**, 319–327 (2017).
31. Song I.S., Cha J.S., Choi M.K. Characterization, *in vivo* and *in vitro* evaluation of solid dispersion of curcumin containing D- α -tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate and mannitol. *Molecules* **21**, 1386 (2016).
32. Huanbutta K., Sriamornsak P., Limmatvapirat S., Luangtana-anan M., Yoshihashi Y., Yonemochi E., Terada K., Nunthanid J. Swelling kinetics of spray-dried chitosan acetate assessed by magnetic resonance imaging and their relation to drug release kinetics of chitosan matrix tablets. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **77**, 320–326 (2011).
33. Mason L. M., Campiñez M. D., Pygall S. R., Burley J. C., Gupta P., Storey D. E., Caraballo I., Melia C. D. The influence of polymer content on early gel-layer formation in HPMC matrices: The use of CLSM visualisation to identify the percolation threshold. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **94**, 485–492 (2015).
34. Kulinowski P., Woyna-Orlewicz K., Rappen G. M., Haznar-Garbacz D., Węglarz W.P., Dorożyński P. P. An understanding of modified release matrix tablets behavior during drug dissolution as the key for prediction of pharmaceutical product performance - case study of multimodal characterization of quetiapine fumarate tablets. *Int. J. Pharm.* **484**, 235–45 (2015).
35. Ghorri M. U., Ginting G., Smith A. M., Conway B. R. Simultaneous quantification of drug release and erosion from hypromellose hydrophilic matrices. *Int. J. Pharm.* **465**, 405–412 (2014).
36. Kojima H., Yoshihara K., Sawada T., Kondo H., Sako K. Extended release of a large amount of highly water-soluble diltiazem hydrochloride by utilizing counter polymer in polyethylene oxides (PEO)/polyethylene glycol (PEG) matrix tablets. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **70**, 556–562 (2008).
37. Chaerunisaa A. Y., Ali R., Dashevskiy A. release adjustment of two drugs with different solubility combined in a matrix tablet. *AAPS PharmSciTech.* **20**, 142 (2019).
38. Ohara T., Kitamura S., Kitagawa T., Terada K. Dissolution mechanism of poorly water-soluble drug from extended release solid dispersion system with ethylcellulose and hydroxypropylmethylcellulose. *Int. J. Pharm.* **302**, 95–102 (2005).
39. Senda M., Fukushima K., Hashiguchi K., Matsumoto T., Gamache P. H., Waraska J. C., Asa D. A new universal detector, corona charged aerosol detection. *Chromatography* **27**, 119–124 (2006).

40. Ilko D., Puhl S., Meinel L., Germershaus O., Holzgrabe U. Simple and rapid high performance liquid chromatography method for the determination of polidocanol as bulk product and in pharmaceutical polymer matrices using charged aerosol detection. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **104**, 17–20 (2015).
41. Almeling S., Ilko D., Holzgrabe U. Charged aerosol detection in pharmaceutical analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **69**, 50–63 (2012).
42. Tamura M., Takahashi A., Uyama A., Mochizuki N. Simultaneous analysis for carbohydrates in drinks by high performance liquid chromatography with charged aerosol detector. *BUNSEKI KAGAKU* **59**, 239–245 (2010).
43. Kou D., Manius G., Zhan S., Chokshi H. P. Size exclusion chromatography with Corona charged aerosol detector for the analysis of polyethylene glycol polymer. *J. Chromatogr. A* **1216**, 5424–8 (2009).
44. Tajiri T., Morita S., Sakamoto R., Mimura H., Ozaki Y., Reppas C., Kitamura S. Developing dissolution testing methodologies for extended-release oral dosage forms with supersaturating properties. Case example: Solid dispersion matrix of indomethacin. *Int. J. Pharm.* **490**, 368–74 (2015).
45. shodex HP HPLC 入門講座,第 4 部 : サイズ排除クロマトグラフィ (SEC)カラム
<https://www.shodex.com/ja/kouza/d.html>
46. FDA Guidance for industry: M9 Biopharmaceutics Classification System Based Biowaivers. May 2021. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/m9-biopharmaceutics-classification-system-based-biowaivers>
47. delMoral-Sanchez J. M., Gonzalez-Alvarez I., Gonzalez-Alvarez M., Navarro A., Bermejo M. Classification of WHO essential oral medicines for children applying a provisional pediatric biopharmaceutics classification system. *Pharmaceutics* **11**, 567 (2019).
48. Shimizu T., Osumi T., Niimi K., Nakagawa K. Physico-chemical properties and stability of cilostazol. *Arzneimittelforschung* **35**, 1117–1123 (1985)
49. “The United States Pharmacopoeia and The National Formulary,” 42th ed. (USP42-NF37), United States Pharmacopeial Convention, Rockville, MD, 2019, pp. 6257, 6259.
50. 医薬品インタビューフォーム ヘマンジオル®シロップ小児用 0.375%, 2021 年 4 月改訂 (第 6 版)
51. 医薬品インタビューフォーム ザンタック®錠 75 ザンタック®錠 150, 2017 年 5 月改訂 (第 10 版)
52. ICH harmonised tripartite guideline : validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1), Current Step 4 version Parent Guideline dated 27 October 1994 (Complementary Guideline on Methodology dated 6 November 1996 incorporated in November 2005)
<https://database.ich.org/sites/default/files/Q2%28R1%29%20Guideline.pdf>
53. Górecki T., Lynen F., Szucs R., Sandra P. Universal response in liquid chromatography using charged aerosol detection. *Anal. Chem.* **78**, 3186–92 (2006).

54. Corona® CAD®検出器 Corona®Plus CAD®検出器 取扱説明書
55. Ratnaparkhi M. P., Gupta J. P. Sustained release oral drug delivery system - an overview. *Int. J. Pharma Res. Rev.* **2**, 11–21 (2013).
56. Jaimini M., Kothari A. H. Sustained release matrix type drug delivery system: a review. *J. Drug Deliv. Ther.* **2**, 142–8 (2012).
57. De Robertis S., Bonferoni M. C., Elviri L., Sandri G., Caramella C., Bettini R. Advances in oral controlled drug delivery: the role of drug-polymer and interpolymer non-covalent interactions. *Expert Opin. Drug Deliv.* **12**, 441–453 (2015).
58. Kim C. J. Drug release from compressed hydrophilic POLYOX-WSR tablets. *J. Pharm. Sci.* **84**, 303–6 (1995).
59. Kim C. J. Effects of drug solubility, drug loading, and polymer molecular weight on drug release from Polyox tablets. *Drug Dev. Ind. Pharm.* **24**, 645–51 (1998).
60. Kelly S. M., Upadhyay A. K., Mitra A., Narasimhan B. Analyzing drug release kinetics from water-soluble polymers. *Ind. Eng. Chem. Res.* **58**, 7428–37 (2019).
61. Ritger P. L., Peppas N. A. A simple equation for description of solute release I. Fickian and non-fickian release from non-swellable devices in the form of slabs, spheres, cylinders or discs. *J. Control. Release* **5**, 23–36 (1987).
62. Ritger P. L., Peppas N. A. A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. *J. Control. Release* **5**, 37–42 (1987).
63. Colombo P., Bettini R., Santi P., Peppas N. A. Swellable matrices for controlled drug delivery: gel-layer behaviour, mechanisms and optimal performance. *Pharm. Sci. Technol. Today* **3**, 198–204 (2000).
64. Sako K., Nakashima H., Sawada T., Fukui M. Relationship between gelation rate of controlled-release acetaminophen tablets containing polyethylene oxide and colonic drug release in dogs. *Pharm. Res.* **13**, 594–598 (1996).
65. Jain A.K., Söderlind E., Viridén A., Schug B., Abrahamsson B., Knopke C., Tajarobi F., Blume H., Anschütz M., Welinder A., Richardson S., Nagel S., Abrahmsén-Alami S., Weitschies W. The influence of hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) molecular weight, concentration and effect of food on in vivo erosion behavior of HPMC matrix tablets. *J. Control. Release* **187**, 50–8 (2014).
66. FDA Guidance for industry: Dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms. August 1997.
<https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/dissolution-testing-immediate-release-solid-oral-dosage-forms>
67. Ebube N. K., Jones A. B. Sustained release of acetaminophen from a heterogeneous mixture of two hydrophilic non-ionic cellulose ether polymers. *Int. J. Pharm.* **272**, 19–27 (2004).
68. Shojaei S., Emami P., Mahmood A., Rowaiye Y., Dukulay A., Kaialy W., Cumming I., Nokhodchi A. An investigation on the effect of polyethylene oxide concentration and particle size in modulating theophylline release from tablet matrices. *AAPS PharmSciTech* **16**, 1281–9

(2015).

69. Ford J. L. Chapter 2 Design and Evaluation of Hydroxypropyl Methylcellulose Matrix Tablets for Oral Controlled Release: A Historical Perspective. In *Hydrophilic Matrix Tablets for Oral Controlled Release*; Timmins P. et al. Eds.; AAPS Advances in the Pharmaceutical Sciences Series 16; 2014; pp 17-51.