

顆粒剤の溶出試験結果に試験液脱気状態が与える影響

山口県環境保健センター

塩田 真友・林 宏美^{*1}・山崎 曜彦・大橋 めぐみ・辻本 智美^{*2}・津田 元彦

*1 元 山口県環境保健センター

*2 山口県宇部健康福祉センター

The Effect of Degassing Condition of the Medium on the Results of Dissolution Tests of Granule Formulations

SHIOTA Mayu, HAYASHI Hiromi ^{*1}, YAMASAKI Akihiko,

OHHASHI Megumi, TSUJIMOTO Satomi ^{*2}, TSUDA Motohiko

Yamaguchi Prefectural Institute of Public Health and Environment

^{*1} Previous Affiliation: Yamaguchi Prefectural Institute of Public Health and Environment

^{*2} Yamaguchi Prefectural Ube Health and Welfare Center

はじめに

本県は、毎年厚生労働省委託事業である後発医薬品品質確保対策事業を実施しており、当所は、県薬務課から依頼を受け、市場流通している後発医薬品の溶出試験を実施している。令和 4 年度の事業において、当所が担当した医薬品（顆粒剤）のうち、複数社の製品が規格値を下回る結果となった。その後、当該製品の製造所が実施した再検査結果はいずれも「適合」であり、当所と異なる結果であった。このため、規格値を下回った製品について、当所と製造所の試験方法を比較し、溶出試験の結果に差異が生じる要因の検討を行ったので報告する。

方法

1 試料

試料には、サリチルアミド 270 mg/g・アセトアミノフェン 150 mg/g・無水カフェイン 60 mg/g・メチレンジサリチル酸プロメタジン 13.5 mg/g を有効成分とする製剤 X 及び Y を用いた。

2 標準品

サリチルアミド、アセトアミノフェン及びカフェインは、東京化成工業(株)製 (HPLC 純度 > 98.0%) を用いた。プロメタジンメチレンジサリチル酸塩は、製造所からの提供品を用いた。なお、プロメタジンメチレンジサリチル酸塩について、本研究を開始する前に使用期限を迎えたことから、当該溶出率については参考値扱いとした。

3 装置等

使用した装置等は、表 1 のとおり。

4 試験法

製剤 X 及び Y の溶出試験は、日本薬局方外医薬品規格第 3 部に従い、パドル法で実施した。試験液は、富士フィルム和光純薬(株)製の崩壊試験第 1 液 pH 1.2, 溶出試験第 1 液 pH 1.2 を用いた。溶出規格は表 2 のとおり。

表1 装置等

装置等	メーカー・型式
恒温水槽	ヤマト科学(株)製 BW100 及び BT-23
吸引ポンプ	アズワン(株)製 MULTI AIR STATION MAS-1
試験液吸引ろ過フィルター 溶出試験器	メルク(株)製 オムニポア 0.45 μm PTFE メンブランフィルター 47 mm 径 富山産業(株)製 NTR-8000AC
溶出液ろ過フィルター	ADVANTEC 製 0.45 μm PTFE メンブランフィルター DISMIC-25HP
高速液体クロマトグラフ装置	(株)日立ハイテクサイエンス製 Chromaster CM5000
分析カラム	ジーエルサイエンス(株)製 InertSustain C18 (5 μm, 150×4.6 mm I. D.)
溶存酸素計*	(株)堀場アドバンスドテクノ製 フィールド型水質計 D-210PD

* 塩分濃度 2 ppt に補正

表2 溶出規格 (規定時間: 15 分)

有効成分	溶出率
サリチルアミド	85%
アセトアミノフェン	85%
無水カフェイン	85%
メチレンジサリチル酸	75%
プロメタジン	

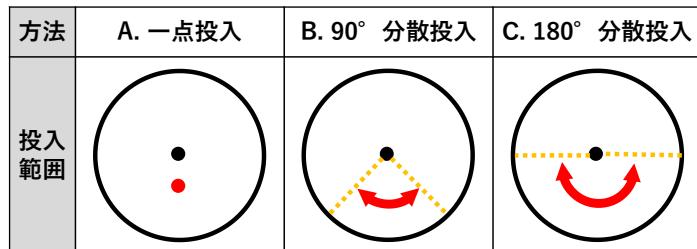


図1 試験条件(ベッセル上面図)

5 試験方法の比較

当所と製造所の試験方法を比較したところ、試料の投入方法及び試験液の脱気方法に相違があることが判明した。このため、次のとおり検討試験を実施した。

(1) 試料の投入方法

次の3通りの投入方法について、製剤X及びYの15分間の挙動を観察し、溶出率を測定した(図1)。なお、試験液の脱気方法は、加温脱気と減圧ろ過を組み合わせた手法による脱気とした。

- A. 一点に少量ずつ投入(以下「一点投入」という。)
- B. ベッセルの4分の1に分散させ投入(以下「90° 分散投入」という。)
- C. ベッセルの半分に分散させ投入(以下「180° 分散投入」という。)

(2) 試験液の脱気方法

次の3通りの方法で脱気した試験液について、溶出試験後の酸素飽和度を溶存酸素計で測定した。また、製剤X及びYの15分間の挙動を観察し、溶出率を測定した。なお、試料の投入方法は、一点に少量ずつ投入とした。

- A. 加温脱気と減圧ろ過を組み合わせた手法による脱気(以下「減圧ろ過」という。)
- B. 45°Cで2時間加温する脱気(以下「45°C 2時間加温」という。)
- C. 無脱気

結果

1 試料の投入方法

(1) 挙動の観察

ア 製剤X

いずれの投入方法も、パドルの回転開始直後にベッセル底面に広がった顆粒剤が底部に集まり、15分間マウントが残存した。投入方法による挙動の違いは認められなかった。

イ 製剤Y

いずれの投入方法も、パドルの回転開始直後にベッセル底面に広がった顆粒剤が底部に集まり、15分間小さなマウントが残存した。製剤Xと同様に、投入方法による挙動の

違いは認められなかった。

(2) 溶出率

溶出率について第 18 改正日本薬局方に基づく判定を行うとともに、統計ソフト EZR Ver. 1.52¹⁾を用いて解析を行った。

ア 製剤X

いずれの投入方法においても、サリチルアミドの溶出率は規格値を下回ったが、その他の 3 成分は規格に適合した（表 3）。一元配置分散分析の結果、いずれの成分も投入方法の違いで溶出率に有意な差は認められなかった（有意水準 $P < 0.01$ ）。

イ 製剤Y

サリチルアミドの溶出率は、「一点投入」では 6 個中 6 個が規格に適合し、「90° 分散投入」では 6 個中 1 個が規格値を下回り、「180° 分散投入」では 6 個中 3 個が規格値を下回った（表 4）。その他の 3 成分はいずれの投入方法においても規格に適合した。Bonferroni 法（ノンパラメトリック検定）による多重比較の結果、いずれの成分も投入方法の違いで溶出率に有意な差は認められなかった（有意水準 $P < 0.01$ ）。

表 3 製剤Xを用いた試料の投入方法の違いによる各有効成分の溶出率
【サリチルアミド】

投入方法	各ベッセル溶出率(%)						判定	平均値(%)	標準偏差
	1	2	3	4	5	6			
一点	71.07	71.47	70.16	81.67	65.25	70.70	不適合	71.72	5.382
90° 分散	68.59	79.61	71.26	64.73	70.09	73.34	不適合	71.27	5.004
180° 分散	73.89	73.06	66.85	70.66	71.15	72.83	不適合	71.41	2.542

【アセトアミノフェン】

投入方法	各ベッセル溶出率(%)						判定	平均値(%)	標準偏差
	1	2	3	4	5	6			
一点	90.71	91.84	90.27	94.49	87.98	90.75	適合	91.01	2.130
90° 分散	90.17	94.42	91.10	89.25	90.11	93.59	適合	91.44	2.088
180° 分散	91.46	91.30	90.25	91.72	91.40	92.81	適合	91.49	0.822

【無水カフェイン】

投入方法	各ベッセル溶出率(%)						判定	平均値(%)	標準偏差
	1	2	3	4	5	6			
一点	94.43	95.70	94.60	96.93	93.58	94.70	適合	94.99	1.167
90° 分散	94.41	96.95	94.81	93.99	94.73	96.60	適合	95.25	1.222
180° 分散	95.19	95.34	94.17	95.98	95.28	96.57	適合	95.42	0.810

【メチレンジサリチル酸プロメタジン】

投入方法	各ベッセル溶出率(%)						判定	平均値(%)	標準偏差
	1	2	3	4	5	6			
一点	88.23	88.99	88.37	91.19	87.86	89.16	適合	88.97	1.192
90° 分散	89.04	91.13	89.77	88.80	89.52	91.54	適合	89.97	1.121
180° 分散	89.84	89.76	89.52	90.80	90.63	91.99	適合	90.42	0.920

規格値未満

表4 製剤Yを用いた試料の投入方法の違いによる各有効成分の溶出率
【サリチルアミド】

投入方法	各ベッセル溶出率(%)						判定	平均値(%)	標準偏差
	1	2	3	4	5	6			
一点	89.85	86.01	86.31	87.20	86.08	90.32	適合	87.63	1.955
90° 分散	87.16	87.47	88.25	83.89	89.67	85.51	判定つかず	86.99	2.041
180° 分散	87.34	90.48	93.10	80.00	83.54	81.75	不適合	86.04	5.146

【アセトアミノフェン】

投入方法	各ベッセル溶出率(%)						判定	平均値(%)	標準偏差
	1	2	3	4	5	6			
一点	96.09	94.85	94.37	94.5	93.64	96.45	適合	94.98	1.078
90° 分散	93.87	94.73	95.49	93.1	96.3	93.21	適合	94.45	1.287
180° 分散	96.73	96.26	98.04	92.74	95.14	93.57	適合	95.41	1.998

【無水カフェイン】

投入方法	各ベッセル溶出率(%)						判定	平均値(%)	標準偏差
	1	2	3	4	5	6			
一点	97.81	95.93	95.18	95.24	93.04	96.90	適合	95.68	1.643
90° 分散	93.87	95.71	97.87	95.54	97.62	94.56	適合	95.86	1.607
180° 分散	98.09	97.28	99.61	95.89	96.58	96.38	適合	97.31	1.365

【メチレンジサリチル酸プロメタジン】

投入方法	各ベッセル溶出率(%)						判定	平均値(%)	標準偏差
	1	2	3	4	5	6			
一点	88.89	87.10	87.73	87.08	85.51	87.44	適合	87.29	1.098
90° 分散	86.37	86.31	86.98	83.99	86.62	83.93	適合	85.70	1.368
180° 分散	86.03	84.71	86.23	81.75	83.67	82.82	適合	84.20	1.784

規格値未満

2 試験液の脱気方法

(1) 試験液の脱気状態

脱気後の各試験液の酸素飽和度は表5のとおりで、2製剤とも脱気を行った「減圧ろ過」と「45°C 2時間加温」では「減圧ろ過」の方が酸素飽和度が低かった。

(2) 挙動の観察

ア 製剤X

「減圧ろ過」ではマウントを形成したが、「45°C 2時間加温」及び「無脱気」ではマウントを形成せず、製剤Xの一部が液面に浮遊し、「減圧ろ過」と全く異なっていた(図2)。また、「無脱気」ではパドル及びベッセルに大きな気泡が生じ、「45°C 2時間加温」ではパドルに微小な気泡が生じた。

イ 製剤Y

各脱気方法におけるマウントの形成及びパドル等の気泡の発生状態は、製剤Xと類似していた(図3)。一方、「減圧ろ過」で形成したマウントの大きさは製剤Xと比べて小さく、「減圧ろ過」と「45°C 2時間加温」及び「無脱気」の挙動を比較すると、製剤Xほどの顕著な差は認められなかった。

表5 製剤X及びYの試験液の脱気状態

脱気方法	酸素飽和度		
	平均値(%) [※]	標準偏差	
減圧ろ過	製剤X	65.8	3.40
	製剤Y	65.6	3.45
45°C 2時間加温	製剤X	86.3	2.10
	製剤Y	87.8	1.75
無脱気	製剤X	95.5	3.36
	製剤Y	92.4	1.05

※ 6ベッセルの試験液の平均値(溶出試験後に測定)

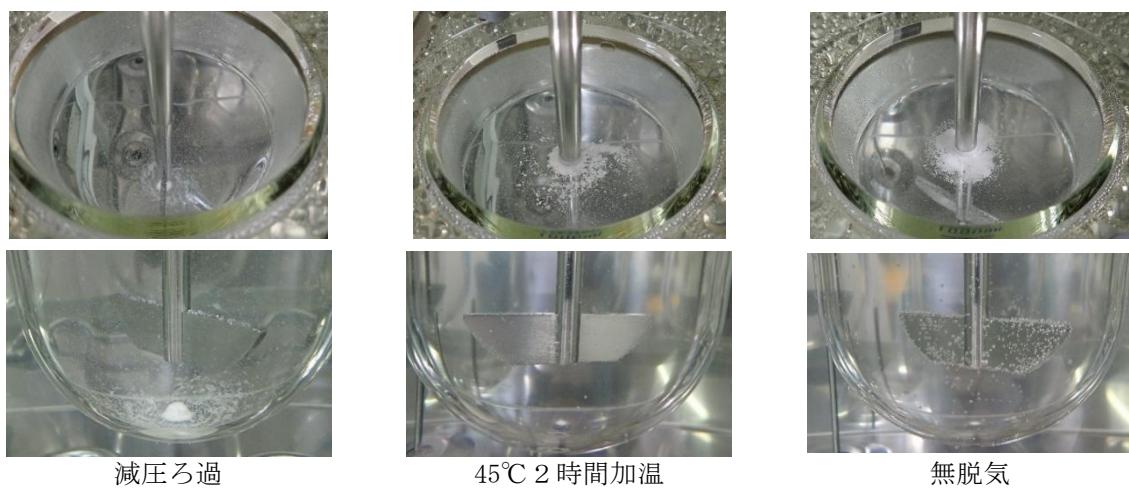


図 2 製剤 X の溶出試験終了直後のベッセル内の様子（上：上面写真、下：側面写真）

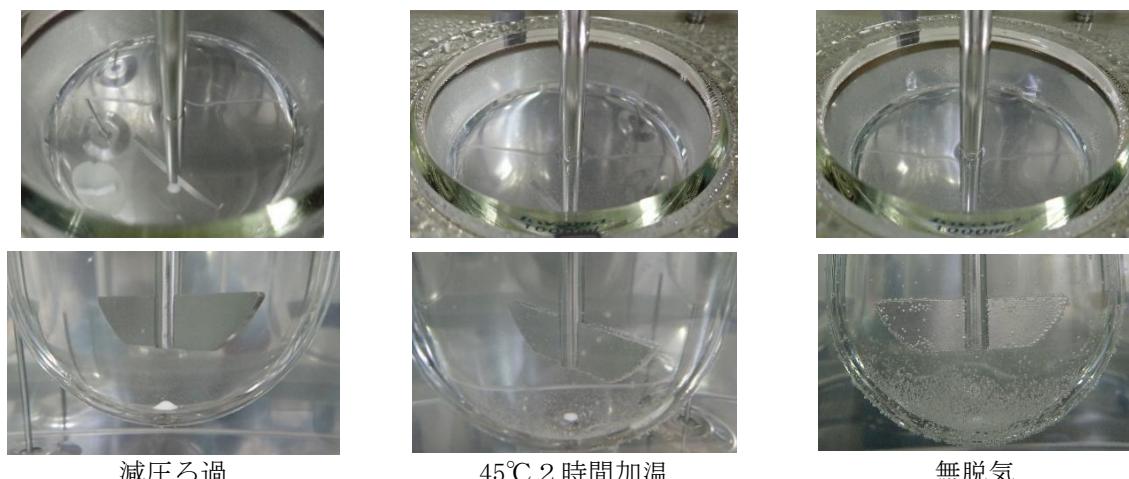


図 3 製剤 Y の溶出試験終了直後のベッセル内の様子（上：上面写真、下：側面写真）

(3) 溶出率

溶出率について 1 (2) と同様に第 18 改正日本薬局方に基づく判定を行うとともに、統計ソフト EZR Ver. 1.52¹⁾を用いて解析を行った。

ア 製剤 X

「減圧ろ過」及び「無脱気」におけるサリチルアミドの溶出率は規格値を下回ったが、「45°C 2 時間加温」の溶出率は規格に適合した（表 6）。他の 3 成分は、いずれの脱気方法でも規格に適合した。Bonferroni 法（ノンパラメトリック検定）による多重比較の結果、「減圧ろ過」と「45°C 2 時間加温」の溶出率を比較すると、4 成分全てで「減圧ろ過」の溶出率が低く、有意な差が認められた（有意水準 $P < 0.01$ ）。

イ 製剤 Y

4 成分全てでいずれの脱気方法でも溶出率は規格に適合した（表 7）。ただし、サリチルアミドの「減圧ろ過」の溶出率は、6 個中 4 個は約 86～89% であり、規格値付近であった。Bonferroni 法（ノンパラメトリック検定）による多重比較の結果、「減圧ろ過」と「45°C 2 時間加温」の溶出率を比較すると、サリチルアミド及びアセトアミノフェンは「減圧ろ過」の溶出率が低く、有意な差が認められた（有意水準 $P < 0.01$ ）。

表6 製剤Xを用いた試験液の脱気方法の違いによる各有効成分の溶出率
【サリチルアミド】

脱気方法	各ベッセル溶出率(%)						判定	平均値(%)	標準偏差
	1	2	3	4	5	6			
減圧ろ過	72.22	75.08	65.81	71.25	68.77	77.59	不適合	71.79	4.238
45°C 2時間加温	89.31	87.16	86.25	87.23	87.77	87.59	適合	87.55	1.009
無脱気	73.08	73.07	69.89	70.65	70.47	71.57	不適合	71.46	1.366

【アセトアミノフェン】

脱気方法	各ベッセル溶出率(%)						判定	平均値(%)	標準偏差
	1	2	3	4	5	6			
減圧ろ過	92.13	92.54	89.62	91.60	91.01	94.43	適合	91.89	1.609
45°C 2時間加温	101.29	100.62	101.09	101.14	101.58	101.89	適合	101.27	0.437
無脱気	100.13	100.89	101.04	100.96	100.29	100.81	適合	100.69	0.380

【無水カフェイン】

脱気方法	各ベッセル溶出率(%)						判定	平均値(%)	標準偏差
	1	2	3	4	5	6			
減圧ろ過	96.98	96.41	95.10	95.98	96.26	98.13	適合	96.48	1.018
45°C 2時間加温	101.79	101.30	101.21	101.51	101.44	101.42	適合	101.45	0.200
無脱気	100.37	100.69	100.79	101.37	100.90	101.00	適合	100.85	0.333

【メチレンジサリチル酸プロメタジン】

脱気方法	各ベッセル溶出率(%)						判定	平均値(%)	標準偏差
	1	2	3	4	5	6			
減圧ろ過	91.00	89.52	89.41	89.73	90.68	92.03	適合	90.40	1.029
45°C 2時間加温	95.43	94.86	95.11	95.35	95.18	94.89	適合	95.14	0.233
無脱気	94.05	94.03	93.81	94.53	94.86	94.23	適合	94.25	0.383

規格値未満

表7 製剤Yを用いた試験液の脱気方法の違いによる各有効成分の溶出率

【サリチルアミド】

脱気方法	各ベッセル溶出率(%)						判定	平均値(%)	標準偏差
	1	2	3	4	5	6			
減圧ろ過	90.83	89.11	90.99	88.83	85.86	87.43	適合	88.84	1.976
45°C 2時間加温	98.25	99.10	99.45	99.08	98.46	99.00	適合	98.89	0.447
無脱気	99.18	98.51	99.29	99.16	99.42	99.22	適合	99.13	0.318

【アセトアミノフェン】

脱気方法	各ベッセル溶出率(%)						判定	平均値(%)	標準偏差
	1	2	3	4	5	6			
減圧ろ過	95.30	94.77	95.58	94.65	93.60	94.24	適合	94.69	0.716
45°C 2時間加温	98.61	98.67	99.04	99.10	98.71	98.89	適合	98.84	0.204
無脱気	98.80	98.37	98.71	98.75	98.89	98.69	適合	98.70	0.178

【無水カフェイン】

脱気方法	各ベッセル溶出率(%)						判定	平均値(%)	標準偏差
	1	2	3	4	5	6			
減圧ろ過	97.02	95.73	98.02	96.28	95.24	95.90	適合	96.37	1.006
45°C 2時間加温	97.80	99.12	99.13	99.89	98.92	100.68	適合	99.26	0.969
無脱気	100.27	100.06	100.60	99.80	99.64	101.50	適合	100.31	0.674

【メチレンジサリチル酸プロメタジン】

脱気方法	各ベッセル溶出率(%)						判定	平均値(%)	標準偏差
	1	2	3	4	5	6			
減圧ろ過	87.52	86.49	88.25	87.35	86.30	86.88	適合	87.13	0.723
45°C 2時間加温	88.02	87.92	88.08	87.65	87.54	88.67	適合	87.98	0.398
無脱気	86.49	85.98	85.87	85.32	85.40	85.50	適合	85.76	0.444

考察

日本薬局方に例示されている「減圧ろ過」を用いた溶出試験の結果、規格値を下回る事例を認めたことから、試料の投入方法と試験液の脱気方法の溶出率に及ぼす影響について検討した。

その結果、試料の投入方法の違いで、2 製剤とも顆粒剤の挙動に差異はなく、溶出率に有意な差は認められなかったことから、投入方法の違いは溶出率に影響を与えないと考えられた。

一方、脱気状態が異なる 3 通りの試験液では、顆粒剤の挙動や 4 成分の溶出率が異なり、2 製剤は脱気による影響を強く受けた。

2 製剤 8 成分中 6 成分において、「減圧ろ過」の溶出率が「45℃ 2 時間加温」より有意に低く、挙動も異なったため、試験液の脱気状態が溶出試験の結果に差異を生じさせる要因であることが示唆された。

試験液の脱気方法と溶存酸素量の関係はこれまでに報告されている²⁾が、本研究でも同様の結果となり、「減圧ろ過」の試験液の酸素飽和度は「45℃ 2 時間加温」より低く、脱気の程度が強いことが確認された。「減圧ろ過」では、この脱気の程度の差によって顆粒剤がマウントを形成し、その結果、「45℃ 2 時間加温」と比較して溶出率が低くなつたと考えられた。

これまで、複数種類の錠剤を用いて溶出試験の変動要因に関する研究が行われており、溶出試験への脱気の程度の影響は酸素飽和度 90% を境界として変化し、酸素飽和度が 90% 程度以下では、それ以上溶存酸素量が減っても溶出率に影響を及ぼさないこと、また、その酸素飽和度 90% 以下を達成できる脱気方法として「減圧ろ過」及び「45℃ 2 時間加温」等が報告されている^{2)~4)}。本研究では酸素飽和度 90% 以下であっても、その脱気の程度の違いにより、顆粒剤の挙動が変化することで、溶出率が低くなり、溶出規格の適否に影響を及ぼす事例が認められた。

なお、製剤 X において、サリチルアミドの溶出率のみ「無脱気」が「減圧ろ過」と同程度となり、他の 3 成分と異なる結果が得られたことについて検討を行ったものの、原因究明には至らなかつた。

まとめ

日本薬局方に試験液の脱気方法の規定はないが、「減圧ろ過」は日本薬局方に例示として示されている。一方、「45℃ 2 時間加温」は医薬品製造の業界で広く使用されており、この 2 種類が一般的な脱気方法として使用されていると考えられる。しかしながら、本研究ではこれらの脱気方法であっても脱気の程度により溶出規格の適否に影響を及ぼす事例が認められた。脱気方法の違いが溶出率に与える影響は、製剤特性や有効成分の溶解性に固有のものと考えるが、溶出規格の適否に影響を及ぼす可能性がある製剤については、個別の規格に試験液の脱気方法を明確に規定する必要があると考える。

参考文献

- 1) Y Kanda. Investigation of the freely available easy-to-use software ‘EZR’ for medical statistics. Bone Marrow Transplantation. 2013, 48, p. 452–458
- 2) 四方田千佳子. 溶出試験の変動要因の解明及びその制御に関する研究 一溶出試験液の脱気方法と溶存酸素量の関係一. 厚生科学研究費補助金医薬安全総合研究事業 溶出試験の変動要因の解明及びその制御に関する研究 平成 13 年度総括研究報告書. 2002, p. 28–33
- 3) 四方田千佳子. 溶出試験の変動要因の解明及びその制御に関する研究. 厚生科学研究費補助金医薬安全総合研究事業 溶出試験の変動要因の解明及びその制御に関する研究 平成 13 年度総括研究報告書. 2002, p. 1–5
- 4) 鹿庭なほ子. 溶出試験の変動要因の解明及びその制御に関する研究 一溶出試験の変動要因に関する研究 (脱気の影響) 一. 厚生科学研究費補助金医薬安全総合研究事業 溶出試験の変動要因の解明及びその制御に関する研究 平成 13 年度総括研究報告書. 2002, p. 6–27