

生物学および物理化学的評価を指標とした
活性型ビタミン D₃ 局所適用外用剤の設計

原田 真一

目次

緒言	6
序章 医薬品開発における医療現場のニーズ調査に基づく製剤コンセプトの設定	9
第1節 フィールド調査	11
第2節 製剤コンセプトの設定	15
第1編 有効性と安全性の確保	16
第1章 非臨床データによる有効性の確保	18
第1節 実験方法	18
1. 実験材料	18
2. 薬物、基剤（溶剤）	18
3. OCT 溶液および製剤の調製方法	19
(1) OCT 溶液	19
(2) OCT ローション	19
4. <i>In vivo</i> ヘアレスマウスを用いた経皮吸収実験	19
5. ODC 活性および TGase の測定方法（薬理学的評価）	21
第2節 理論	22
二層拡散モデルを用いた皮膚中薬物動態パラメータの解析	22
第3節 結果および考察	25
1. OCT 軟膏の皮膚吸収プロファイル	25
2. OCT 溶液（薬物溶液）からの皮膚吸収性	26
3. MCT を配合する OCT ローションからの皮膚吸収性	28
4. 1,3-BG を配合する OCT ローションからの皮膚吸収性	30
5. OCT ローションの薬物動態学的評価	33
6. OCT ローションの薬理学的評価	35
7. OCT の皮膚吸収性に及ぼす基剤（溶剤）の影響	38
8. 基剤（溶剤）効果；OCT の分配および拡散に対する作用	41
(1) MCT の効果	42
(2) 1,3-BG の効果	43
9. OCT の皮膚吸収に及ぼす薬物、溶剤および皮膚の極性の影響	44
10. 溶解度パラメータを利用した局所皮膚外用剤の設計	46
第4節 小括	47
第2章 非臨床データによる安全性の確保	48
第1節 実験方法	49
1. 実験材料	49
2. 被験製剤（OCT 軟膏、OCT ローションおよび OCT ローションプラセボ）	49
3. 暴露量試験	49
4. 皮膚累積刺激性試験	49

5. 眼粘膜一次刺激性試験.....	50
第2節 結果および考察	50
1. 暴露量試験	50
2. 皮膚累積刺激性試験および眼粘膜一次刺激性試験.....	52
第3節 小括	54
第3章 臨床データによる有効性と安全性確保	55
第1節 試験方法	55
1. 皮膚安全性試験	55
2. 皮膚薬物動態学的試験（DPK 試験）	57
3. 第 III 相臨床試験	57
第2節 結果および考察	59
1. 有効性の評価	59
(1) 皮膚薬物動態学的試験（DPK 試験）	59
(2) 第 III 相臨床試験	60
2. 安全性の評価	61
第3節 小括	62
第2編 品質と使用性の確保	63
第1章 非臨床データによる品質と使用性の確保.....	64
第1節 実験方法	64
1. 実験材料	64
2. OCT の安定性試験（pH の選定）	64
3. 保存効力試験（pH 調節剤の量による影響）	64
4. 保存効力試験（Initial および加速 6 箇月保管品の評価）	65
5. 付着力測定	65
6. 粘度および流動性試験.....	66
第2節 結果および考察	67
1. OCT ローションの物理化学的特性.....	67
2. OCT ローションの微生物学的特性.....	68
3. OCT ローションの付着力、粘度および流動性評価	70
4. OCT ローションの製剤品質の評価および安定性試験	72
第3節 小括	74
第2章 臨床データによる使用性の確保.....	75
第1節 試験方法	75
第 III 相臨床試験	75
第2節 結果および考察	75
第3節 小括	77
第3編 工業化研究による生産性の確保	78
第1節 実験方法	79

1. 実験材料	79
2. 使用機械および製造方法	80
3. 品質評価項目、規格および試験方法	82
第2節 結果および考察	84
1. プロセス・バリデーションにおける重要工程の選定と製剤品質に与える工程パラメータの影響	84
2. 乳化工程の予測的バリデーション	87
(1) 乳化工程のスケール・アップ理論	87
a. 周速とパス回数を同一条件で行うスケール・アップ理論	87
b. 単位製剤当たりの所要動力を同一にするスケール・アップ理論	88
(2) 周速とパス回数を同一条件で製造した製剤の品質評価	89
(3) 単位処理量当たりの所要動力を同一条件で製造した製剤の品質評価	92
3. 実生産スケールでの検討	93
第3節 小括	94
結語	95
謝辞	100
引用文献	101

略語と記号

略語	
OCT	22-oxa-1 α , 25-dihydroxyvitamin D ₃
MCT	Medium-chain fatty acid triglyceride
IMP	Isopropyl myristate
1,3-BG	1, 3-Butylen glycol
PG	Propylene glycol
TPA	12-O -tetradecanoylphorbol 13-acetate
ODC	Ornithine decarboxylase
TGase	Transglutaminase
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
LC-MS/MS	Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry
UVA	Ultraviolet A
TEWL	Trans Epidermal Water Loss
DPK	Dermatopharmacokinetics
API	Active Pharmaceutical Ingredient

記号	
$C_{vehicle}$	基剤中薬物濃度
C_{skin}	皮膚中薬物濃度
$D_{vehicle}$	基剤中の薬物拡散係数
D_{skin}	皮膚中の薬物拡散係数
$L_{vehicle}$	基剤の厚さ
L_{skin}	皮膚の厚さ
$K_{skin/vehicle}$	薬物の基剤から皮膚への分配係数
AUC	薬物濃度-時間曲線下面積
T_{max}	最高血中濃度到達時間
C_{max}	最高血中濃度
D	薬物の真の拡散係数
τ	皮膚透過経路における曲路率

緒言

近年、医薬品業界においては、新薬開発の費用増大、長期化、成功確率の低下、市場の飽和などの理由により、新薬の創出がますます困難になっている。研究開発のコストが上昇する一方で、その成功確率は低迷し、医薬品として患者に届くのは、数万分の1の確率とも云われている。こうした背景の中、既存製品あるいは開発品のライフサイクルマネジメントが注目されている。その個々の取組みとしては、適用追加、投与経路変更、新剤形、配合剤、剤形追加、用法・用量変更、容器・施栓系の変更など¹⁾があり、これらの多くは製剤技術および製剤設計が大きく関与するライフサイクルマネジメント戦略である。この中でも剤形追加は、生物学的に同等な剤形の市場追加を目指す研究として、比較的成功確率は高い開発研究と認識されているが、克服すべき課題も多い。例えば、薬効成分に新規性のない剤形追加研究では、医療現場（医師、看護師、薬剤師および患者）のニーズを鋭敏に反映した製剤学的特徴の具現化が求められる。また、先発剤形と異なる剤形であるにも関わらず、同等の有効性、同等以上の安全性が要求される。特に、半固形の局所皮膚適用外用剤（以下、外用剤）では、経口剤、注射剤などの他の剤形に比べて薬物の吸収性への基剤の影響が大きく^{2) 3)}、剤形（formula）／剤型（type）が異なれば有効性が異なることが一般的であり⁴⁾、適用される個々の外用剤に応じて製剤的な特徴ならびに基剤効果を考慮した処方設計が必要となる。ゆえに、外用剤の設計においては、異なる製剤間での生物学的同等性を確保するための技術的ハードルが実質的に高くなる。しかし、その生物学的同等性を確保する手段および方法論に関しては、基礎的および学術的研究としての報告は僅かに散見されるものの、残念ながら標準化した手法に言及し、その手法を実際の開発に応用した研究はほとんどない。

また、品質の確保に関しても、剤形毎の特徴および基剤による影響を考慮する必要がある。例えば、水に非常に不安定な薬物の剤形追加研究、すなわち油性製剤の剤形追加品として水溶性製剤を設計する場合は、安定性に不利な条件（環境）でありながら主薬を製剤中で安定に配合させるための設計技術が要求される。加えて、感覚器官の1つである皮膚に直接製剤を投与（塗布）する外用剤では、治療アドヒアランスの低下⁵⁾を解決するために、医療従事

者、患者の製剤に対する使用性（使用感）への要求を満足させると共に、基剤由来の刺激性を極力抑えた処方設計が求められる。さらに、局所皮膚外用剤のスケール・アップ、プロセス研究に関しては、経口剤、注射剤などに比較して、研究報告や実例が少ないため、その方法論を個々に検討する必要がある。

このように、外用剤の剤形追加は医薬品のライフサイクルマネジメントとして魅力的な研究対象の1つであり、新薬開発とは次元の異なる難しさ、克服すべき課題がある。しかしながら、当該剤形追加の特徴や、その具体的な研究開発手法を論じた報告はほとんどない。そこで本研究では、活性剤ビタミン D₃ 外用剤における油性軟膏剤から O/W 型の乳剤性ローション（以下、OCT ローションに略記）への剤形追加を研究事例として、局所皮膚外用剤開発の極めて初期段階から、臨床試験（治験）および生産化に至るまでの全体を俯瞰しながら、外用剤の製剤設計法について検討を行い、有効性、安全性、品質、使用性ならびに生産性の確保に関する手法を論述した。

第1編では、OCT ローションの剤形追加に係る「有効性の確保」と「安全性の確保」に関する研究成果⁶⁾を示した。前者に関しては、製剤を投与したときの薬物の皮膚移行性について、基剤（溶剤）極性による皮膚角層の極性変化の影響が大きいとの仮説を立て、皮膚薬物動態学的解析（分配係数、拡散係数への影響）を利用しながら、処方中に配合する基剤（溶剤）による OCT の経皮吸収性への影響に着目した処方設計を行った。後者に関しては、OCT ローションの全身および局所の副作用を評価する目的で、皮膚薬物動態学試験に則った有効成分の暴露量評価と共に、OCT ローションの局所的な安全性評価として、皮膚累積刺激性および眼粘膜一次刺激性を評価した。さらに、これらの非臨床試験（動物試験）における有効性および安全性の結果を、皮膚安全性試験、皮膚薬物動態学的試験（DPK 試験）および第 III 相臨床試験の三つの臨床試験（ヒト試験）で検証した。

第2編では、OCT ローションの剤形追加に係る「品質および使用性の確保」に関する研究成果⁶⁾を記述した。物理化学的特性に関しては主薬の安定性に影響する製剤 pH に着目し、併

せて、OCT ローションが多回投与製剤であることを踏まえ、微生物学的特性の評価を行った。治療アドヒアランスに直接影響する使用性に関しては、ぬり易く（ベトツキがなく）、垂れ難い製剤特性を達成するために、付着性、粘度および流動性を指標としたレオロジー的な製剤特性の評価を行った。これら非臨床データ（物性評価試験）において得られた使用性の結果を臨床試験（第 III 相臨床試験）で検証し、物性評価試験とヒトによる官能評価結果との関係を考察した。

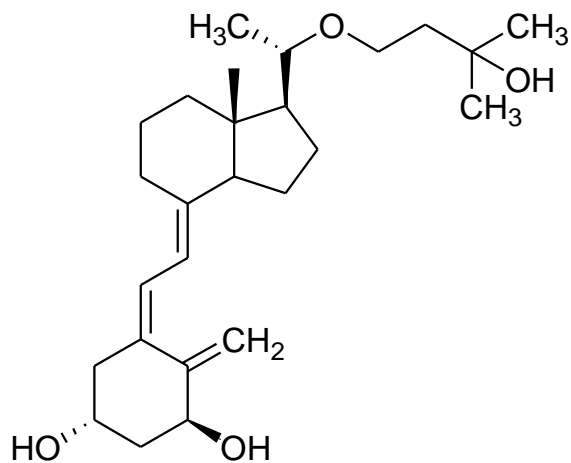
第 3 編では、OCT ローションを上市する上での最後の要件として「生産性の確保」に関する研究成果⁷⁾を示した。すなわち、OCT ローションの実生産スケールにおける製剤品質の確保を目的として、製造機械の相似性を考慮した工学理論に基づく外用剤のスケール・アップ研究を行った。

以上、本論文では、医療ニーズに基づいて外用剤の皮膚吸収性の制御手法に着目した評価と考察を中心に行いながら、研究開発の初期段階から商業生産化までの全般を扱い、医療用医薬品における外用剤の製剤設計および開発法を詳らかにした。

序章 医薬品開発における医療現場のニーズ調査に基づく製剤コンセプトの設定

乾癬治療の外用療法として活性型ビタミン D₃ の外用剤があり、その作用機序は表皮細胞の増殖抑制と分化誘導であることが報告されている⁸⁾。その中の一つである 22-オキサ-1 α , 25-ジヒドロキシビタミン D₃ (Figure 1、以下、OCT に略記)⁹⁾ を含有するオキサロール[®]軟膏 25 μ g/g (以下、OCT 軟膏に略記)¹⁰⁾ は、ワセリンをベースとして設計された油性軟膏である。OCT 軟膏は、疾患部位の皮膚を被覆し、乾燥した鱗屑を伴う乾癬治療に適した剤形であり、また他の剤形に比べて刺激感が少ないことより、尋常性乾癬、魚鱗癬群および掌蹠角化症を適応症とし、広く医療現場で使われている。この OCT 軟膏に代表されるように、一般的に皮膚科で処方される外用剤では、油性軟膏が局所治療剤の第一選択剤形として用いられている。その理由の一つとしては、油性軟膏が有効性、安全性に優れる特性を有し、古くより多くの皮膚科医に好まれ使用されてきた背景がある。しかし、一方で、油性軟膏には基剤特有の使用感の悪さ（頭髪への付着、ベトツキ）が課題として指摘されてきた。特に、乾癬は体幹部、上肢・下肢の他に、被髪頭部に皮疹が発現することが多い疾患であるため、上記特徴を有する油性軟膏の塗布が難しい。これより、乾癬の好発部位である被髪頭部への適用に際しては、油性軟膏以外に、治療アドヒアランスを高めるための新たな製剤（剤形）の提供が必要と考えられた。そこで筆者は、OCT 軟膏と生物学的に同等で、かつ病態皮膚に塗布した時の感触、ぬり易さを向上させた剤形追加品の開発を行うことにした。

医薬品の開発には、三大要素の有効性、安全性および品質の確保は勿論のこと、医療現場のニーズを反映した製剤特性が求められる。これより、本剤形開発に際しては、OCT 軟膏との生物学的同等性確保に主眼を置くと共に、はじめに医療上のニーズ・開発意義を正確に把握するため、「乾癬治療における OCT 軟膏に継ぐ外用剤の必要性」に関するフィールド調査（皮膚科専門医への聞き取り調査）を行った。次に、これらの調査結果を基に、製剤設計に着手するにあたり、開発すべき製剤の目標品質（製剤コンセプト）を定めることにした。



General Name: Maxacalcitol [abbreviation; OCT]

Chemical Name:

(+) - (5Z,7E) - (1S,3R,20S) -20- (3-Hydroxy-3-methylbutyloxy) -9,10-secopregna-5,7,10 (19)
-triene-1,3-diol

Molecular Weight: 418.62

Molecular Formula: $C_{26}H_{42}O_4$

Appearance: white and crystallized powder

Solubility: very soluble to methanol, freely soluble to ethanol (99.5) , soluble to ether, insoluble to water

Melting Point: 109.8 – 112.0°C

Figure 1 Physical and chemical characteristics of 22-oxa-1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃ [OCT]

第 1 節 フィールド調査

OCT 軟膏は、医療現場で乾癬を適応症とした薬剤治療に用いられており、皮膚科専門医の捉える乾癬治療の現状、必要な製剤の剤形／剤型および特性を把握することを目的として、全国複数の皮膚科専門医における予備的な調査（アンケート）を実施した。その後、全国 9 施設の皮膚科専門医、合計 10 名を訪問し、乾癬治療において OCT 軟膏の次に必要となる剤形、乾癬治療に適した剤形／剤型について回答して頂いた。Table 1 に訪問調査を行った対象施設および皮膚科専門医を、Figure 2～Figure 6 に調査結果を示す。

Table 1 Dermatological expert doctors for medical field surveys of OCT drug products

訪問施設名	皮膚科専門医
池田回生病院皮膚科	須貝 哲郎
二村皮膚科	二村 省二
慶應義塾大学	西川 武二
慶應義塾大学	田中 勝
国立京都病院皮膚科	荻野 篤彦
市立堺病院皮膚科	東 禹彦
野村皮膚科	野村 政夫
京都大学	宮地 良樹
日生病院皮膚科	東山 真里
名古屋大学	早川 律子

調査期間：2001 年 8 月 22 日～2001 年 9 月 17 日

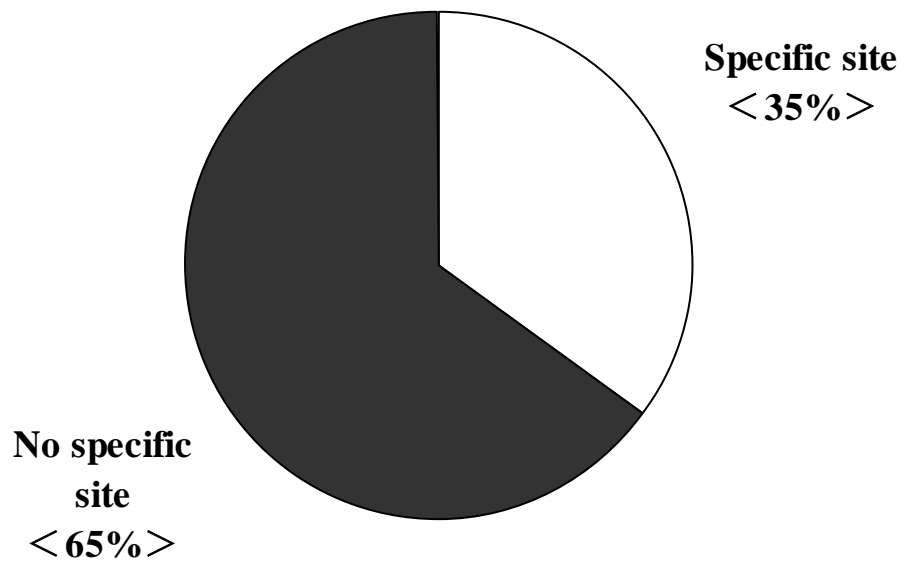


Figure 2 Results of medical field surveys ; “Applying-site with ointment”

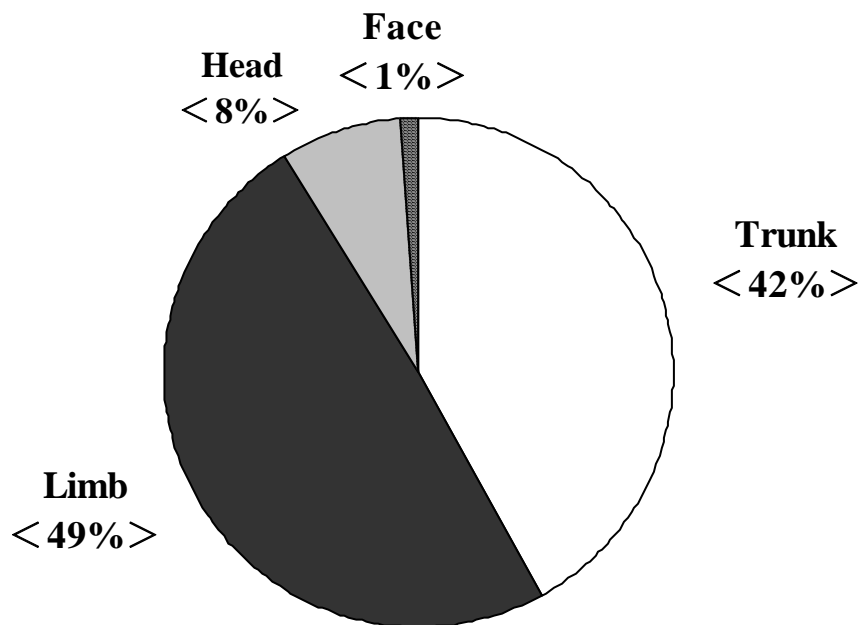


Figure 3 Results of medical field surveys ; “Specific applying-site with ointment”

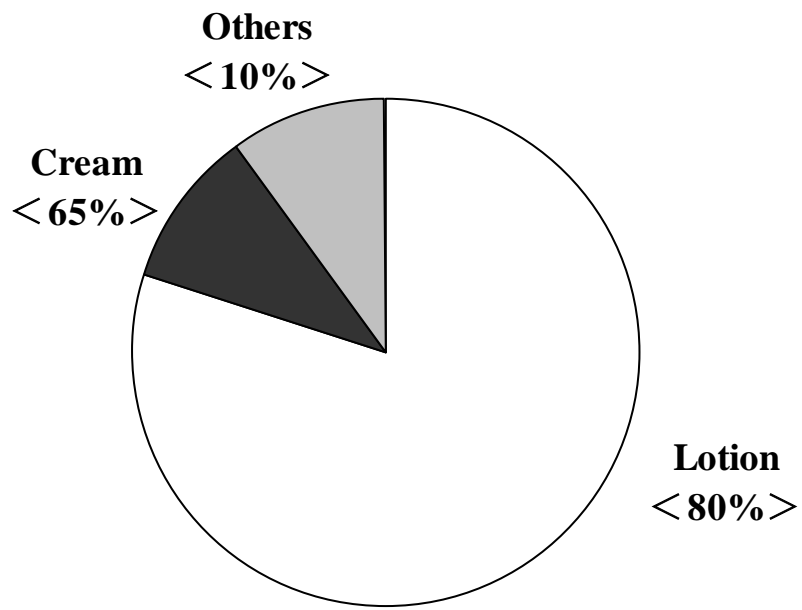


Figure 4 Results of medical field surveys ;
 “Required formula next to ointment for topical psoriasis treatment”

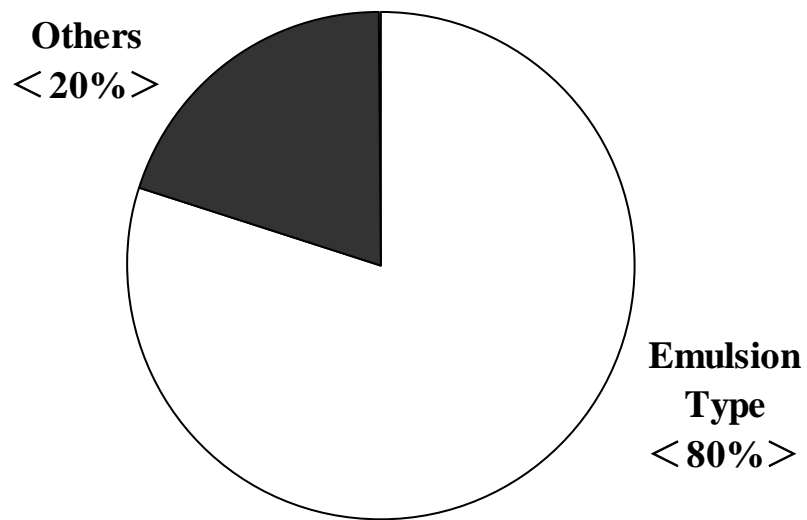


Figure 5 Results of medical field surveys ;
 “Suitable type of lotion for topical psoriasis treatment”

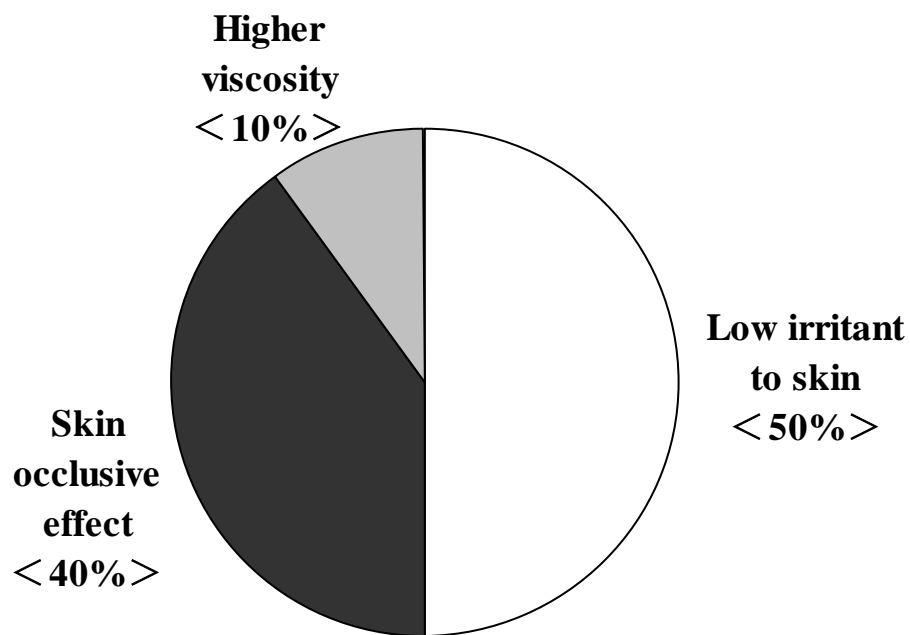


Figure 6 Results of medical field surveys ;

“Why is the emulsion-type lotion preferred for topical psoriasis treatment?”

Figure 2 および Figure 3 に示した調査結果より、OCT 軟膏に関しては、特定の部位のみに使用されている訳ではなく、体幹、四肢に続いて、頭部および顔面に使用されていることが分かった。また、OCT 軟膏に続いて求められる剤形としては、当初想定していたクリーム剤ではなくローション剤であった (Figure 4)。さらに、その剤型 (タイプ) としては、乳剤性が選ばれた (Figure 5)。この理由としては、溶液性タイプよりも刺激が少ない、あるいは被覆性が高いことより、乳剤性タイプの方が好まれることが明らかとなった (Figure 6)。

以上の結果より、OCT 軟膏の剤形追加品としては、有毛部に好発する乾癬に適用し易く、かつ刺激が少ない皮膚被覆効果および保湿効果に優れた乳剤性タイプ (O/W 型) のローション剤が医療現場で求められていることが示された。

第2節 製剤コンセプトの設定

皮膚科専門医の捉える乾癬治療に関するフィールド調査結果を踏まえ、OCT軟膏に継ぐ剤形として、OCTを含有する水中油型（O/W型）の乳剤性ローション（OCTローション）が選定された。そこで、OCTローションの設計に際し、製剤コンセプトを設定した。製剤コンセプトとは、開発する製剤の目標品質、すなわち製品の設計要件を具体化したものであり、このコンセプトが達成できれば、それが開発した製品の特徴になり、「モノづくり」の本質を表す。

実際の製剤コンセプトをTable 2に示す。開発品が厚生労働省の承認を得て上市を許可されるためには、医薬品の三要素である有効性、安全性、品質を確保することが大前提となる。また、開発した製剤が実際に使用されるためには、治療アドヒアランスを向上させる必要があり、そのために優れた「使用性」を確保することも重要と考えられる。さらには、開発段階から生産段階までの製剤品質が同等であることを確保し、開発段階で得られた治療効果を商用生産で実現することも必要である。

以上の基本要件を勘案し、「有効性」、「安全性」、「品質（安定性）」、「使用性」および「生産性」の5項目から構成される目標品質を明確化したOCTローションの製剤コンセプトの設定を行った（Table 2）。

Table 2 Pharmaceutical concept of OCT [O/W] lotion

1. Equivalent efficacy with OCT ointment
2. Equivalent whole body and local safety (low irritant) with OCT ointment (To design formula with pharmaceutical ingredients approved for medical drugs)
3. Physicochemical stability and preservative effectiveness at least for 2 years at room temperature
4. Usability (convenience in use for patients) ; Ease to apply (not sticky) on scalp, Not fluid into eyes, and Not uncomfortable odor
5. Quality consistency between small and large (commercial) scale products (Ease to transfer for industrial production)

第1編 有効性と安全性の確保

外用剤の処方は、従来、安定性や適合性、さらには患者や消費者の受容性などの視点より設計されてきたが、近年は、その処方設計プロセスにおいて薬物送達能と吸収性のコントロールが重要視されるようになってきている。また、外用剤は他の投与ルートに比べ、薬物の有効性に対する剤形ならびに基剤の影響が顕著であることが広く認識されている。例えば、軟膏剤では配合される油分により角層表面からの水分蒸散が抑制されるため皮膚の水和と高い薬物浸透性がもたらされるが、クリームやローション剤では塗布後に揮発性成分が蒸発するため皮膚密閉効果が小さく、軟膏剤に比べ薬物送達能は低いとする報告がある^{11),12)}。加えて、同一濃度、同一薬物を含有する製剤であっても、使用する基剤の物理化学的性質によって薬物の皮膚への送達性が大きく異なること¹³⁾、ならびに同一処方でも薬物を含むエマルジョンの液滴径によって薬物の皮膚への送達能が変化するとの報告がある¹⁴⁾。他に、Stoughtonらはジェネリック品と先発品との薬理効果に違いのあることを指摘している^{15),16)}。このような外用剤の処方による効果の違いはステロイド^{17),18),19)}、抗真菌剤⁴⁾、サリチル酸²⁰⁾などの多岐に亘る薬剤で報告されており、また使用した基剤によって臨床効果の発現が大きく左右されるため^{2),3)}、基剤効果を把握することが処方設計上の要点、あるいは克服すべき課題と考えられる。実際、基剤効果に着目した外用剤の処方設計指針あるいは技術に関してのいくつかの報告がなされている。例えば、Ostrengらは基剤効果を推定する上では、基剤の組成および基剤への薬物溶解性が重要であり、*in vitro* 放出試験を利用することにより基剤の影響を予測できるとしている^{21),22),23)}。また、Hadgraftらは、処方成分の皮膚への影響として、細胞間脂質のラメラ構造への作用（透過バリアーの変化）と皮膚脂質の溶解度パラメータの修飾の二つの作用があることを報告している²⁴⁾。さらに、Kumarらは使用されている薬物と基剤の溶解度パラメータが重要であり、局所皮膚外用剤においては、薬物の皮膚透過性よりも皮膚滞留性の評価が重要であると主張している²⁵⁾。これらの研究は、局所皮膚外用剤の処方設計において不可欠な知見を与えてくれる。しかしながら、何れの報告も異なる剤形間で同等な経皮吸収性を得るためのより具体的かつ実践的な方法について言及されたものではなく、複雑な処方構成の中で、どの処方成分に着目して何をコ

ントロールすべきかの指標は明確となっていないのが現状である。

本編では、OCT 軟膏との生物学的同等性の確保が要件とされる O/W タイプの乳剤性ローション剤（OCT ローション）を設計するにあたり、製剤処方中に配合する添加剤、特に薬物の溶解剤（溶剤）の種類とその配合量に着目し、OCT の経皮吸収性への影響を評価した。すなわち、製剤を投与したときの OCT の皮膚移行性については、基剤（溶剤）極性による皮膚角層の極性変化、あるいは薬物透過ルートの変化の影響が大きいとの仮説を立て、この極性変化に及ぼす基剤（溶剤）効果を、二層拡散モデルを用いた皮膚中薬物動態パラメータ（分配係数および拡散係数）の変化を基に評価・考察し、外用剤適用時の皮膚中薬物濃度を調節可能な処方設計方法に関する検討を行った。

第1章 非臨床データによる有効性の確保

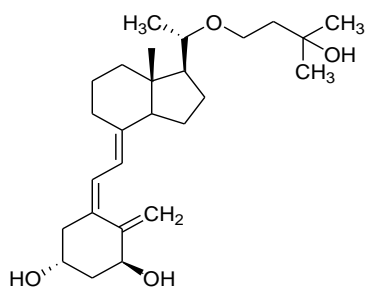
第1節 実験方法

1. 実験材料

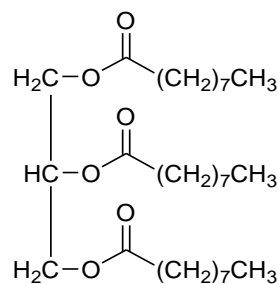
OCT は中外製薬株式会社より提供された社内規格品を用いた。OCT 軟膏は、中外製薬株式会社より販売されているものを購入し、使用した。また、基剤として用いた原料は各メーカーの製造する公定書規格品（日局 14，薬添規 2003，食添第 7 版）を用いた。その他製剤の評価試験に用いた試薬および溶媒類は、すべて市販の試薬特級または分析用を用いた。

2. 薬物、基剤（溶剤）

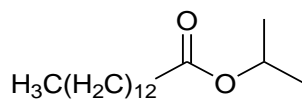
OCT および溶剤の化学構造式を Figure 7 に示す。ここに示す構造式に基づき、OCT、基剤（溶剤）の極性の指標として、溶解度パラメータを Fedors 法により計算した²⁶⁾。皮膚（動物の角質層）の溶解度パラメータは文献値²⁷⁾を引用した。



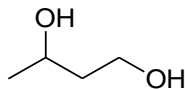
OCT (M.W.418.62)



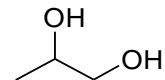
MCT (M.W.560.51)



IPM (M.W. 270.46)



1, 3-BG (M.W. 90.12)



PG (M.W. 76.09)

Figure 7 Chemical structures and molecular weight (M.W.) of OCT and solvents.

MCT is the triglyceride of straight chain fatty acid ; $\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_n \text{COOH}$ ($n=4 - 10$).

In this study, the repeated number of polyethylene (n) is assumed 7 for calculating the molecular weight (M.W.).

3. OCT 溶液および製剤の調製方法

(1) OCT 溶液

OCT 溶液は、主薬である OCT を外用剤の基剤成分である溶解剤（溶剤）に溶かした溶液である。ビーカーに秤取した各 50 g の中鎖脂肪酸トリグリセリド（MCT）、ミリスチン酸イソプロピル（IPM）、1,3-ブチレングリコール（1,3-BG）およびプロピレングリコール（PG）の溶剤に、2.5 mg の OCT を含有するエタノール溶液 100 μL を各々添加した。次に、この溶液に総量が 100 g となるように各溶剤を添加し混合し、0.0025% の OCT 溶液を調製した。

(2) OCT ローション

OCT ローションは、主薬、油相成分（界面活性剤を含む）および水相成分から構成される乳剤性のローション剤である。後記する Table 3 および Table 4 に示した各処方成分（100 g スケール相当量）を、油相（無水エタノール、MCT、乳化剤、安定化剤）および水相（ジイソプロパノールアミン、1,3-BG、カルビキシビニルポリマー）に分けて各々秤量し、65°C 以上（85°C）で加熱溶解させた。この油相に主薬である OCT を加えた後、さらに水相成分を加え卓上乳化機（プライムミックス社製、T.K.ロボミックス）にて毎分 6,000 回転、2 分の攪拌混合を行い、続いて室温まで冷却させて O/W 型の乳剤性ローション（OCT ローション）を調製した。

4. *In vivo* ヘアレスマウスを用いた経皮吸収実験

動物実験は動物実験の指針；General Considerations for Animal Experiments にしたがって行った（以下、5. ODC 活性および TGase の測定方法（薬理的評価）も同じ）。実験動物には、日本エスエルシー株式会社より購入した雄性ヘアレスマウス（Hos:HR-1、7 週齢、体重 25~35 g）を用いた。エーテル麻酔下で頸背部を微温湯で拭いた後、スパーテルに製剤を秤量し、アロン

アルファ[®]により固定したプラスチック枠内 (1.6×2.5 cm : 4 cm²) の皮膚に均一に塗布した。この後、枠を粘着性包帯で固定した。投与量は製剤として 20 mg/body [5 mg/cm²] とし、単回投与とした。所定の時間経過後に、エーテル麻酔下で 70%エタノールを浸したカット綿により投与部の皮膚表面を 4 回拭き取った後、放血死させ、投与部の皮膚を採取した。採取した皮膚にメタノール 3 mL および 100 μL の内標準溶液 (*p*-ヒドロキシ安息香酸ブチルのエタノール溶液; 3 μg/mL) を添加した後、直ちにホモジナイズし、ボルテックスにより攪拌後、遠心分離 (室温、3,000×g、5 分) し、液相を採取した。採取した液相全液を窒素気流下 40°C で乾固後、4 mL ジエチルエーテルおよび 1 mL 精製水に再溶解して、有機層 (ジエチルエーテル層) にて抽出した。4 mL ジエチルエーテルを用いた抽出を計 2 回実施した後、エーテル層全液を窒素気流下 40°C で乾固し、0.2 mL のエタノールに再溶解し、高速液体クロマトグラフ法 [λ 265 nm、Inertsil ODS-3V、移動相 : 50 mM 酢酸アンモニウム水溶液:アセトニトリル (60:40)、移動相の流速 1 mL/min、25°C] で分析して皮膚中 OCT 量を求めた。また、皮膚表面を拭き取ったカット綿に、100 μL の内標準溶液 (*p*-ヒドロキシ安息香酸ブチルのエタノール溶液; 10 μg/mL) および 10 mL のエタノールを添加し、約 80°C の湯浴中で 5 分間加温した後、遠心分離 (室温、3000×g、5 min) し、液層を採取した。10 mL のエタノールを用いた抽出を計 2 回実施した後、採取した液相全液を窒素気流下 40°C で乾固した後、0.2 mL エタノールに再溶解し、上記と同様に高速液体クロマトグラフ法で分析して製剤中の残余 OCT 量 (未吸収の OCT 量) を求めた。

なお、皮膚中 OCT 量および残余 OCT 量は投与量に対する各 OCT 量の割合 (% of dose) として百分率により示した。

5. ODC 活性および TGase の測定方法（薬理的評価）

表皮細胞増殖抑制作用は、7 週齢の雄性ヘアレスマウス（Hos:HR-1）の背部皮膚へのホルボールエステル（12-*O* -tetradecanoylphorbol 13-acetate [TPA]）塗布により誘導される表皮 Ornithine decarboxylase（ODC）活性を細胞増殖の初期マーカーとして評価した。すなわち、マウス背部皮膚（1.5 cm×4 cm）に、TPA（100 μmol/L アセトン溶液）、またはアセトン（溶媒群）を 100 μL 塗布した直後に被験製剤 5 mg を塗布し、その 4 時間後にマウス背部皮膚から表皮を採取し超音波処理して酵素溶液を得た。この酵素溶液の ODC 活性は、¹⁴C]-ornithine（比放射能 1.9 GBq/mmol, New England Nuclear）を基質として反応させ（37°C、60 min）、生成された ¹⁴C]-CO₂ 量を酵素溶液のタンパク量で補正し、Protein assay kit (Bradford 法, Bio-Rad) を使用して算出した。なお、溶媒群はアセトン塗布のみを、control 群は TPA のみの塗布群とした。

一方、表皮細胞分化誘導作用は、7 週齢の雄性ヘアレスマウス（Hos:HR-1）の背部皮膚における膜結合型 transglutaminase (TGase) の活性を指標として評価した。すなわち、ヘアレスマウス背部皮膚（1.5 cm×4 cm）に、被験製剤 5 mg を塗布し、塗布 9 時間後に塗布部の皮膚を採取して表皮を超音波処理した後、遊離型 TGase を除去し、1% TritonX-100 含有酵素抽出緩衝液により膜結合型 TGase 溶液を得た。この酵素溶液の TGase 活性は、³H]-putrescine および casein を基質として反応させ（37°C、15 min）、生成される ³H]-casein 量を測定し、酵素溶液のタンパク量で補正した。無処置群は採取部位のマーキングのみを行った。これらの結果については、統計解析（Aspin-Welch の *t* 検定、Dunnett の多重比較検定）を行った。

第2節 理論

二層拡散モデルを用いた皮膚中薬物動態パラメータの解析

In vivo ヘアレスマウスを用いた OCT の皮膚透過実験データを用いた皮膚中薬物動態パラメータの解析には、Figure 8 に示す基剤（製剤）と皮膚（角層）からなる二層拡散モデル²⁸⁾を適用した。本解析方法について、以下に説明する。

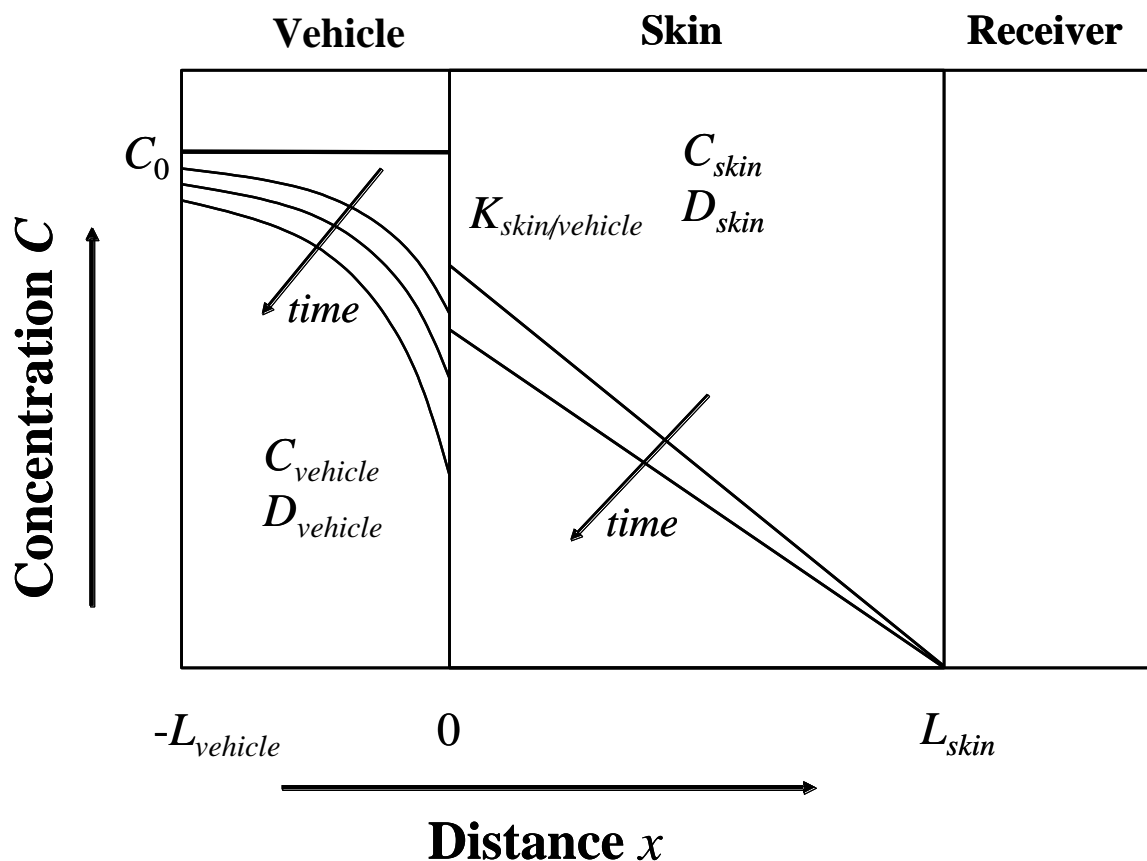


Figure 8 A two-layered diffusion model; Partition and diffusion profile of the drug in vehicle/skin. C_0 is the initial drug concentration in vehicle. $C_{vehicle}$ and C_{skin} are the drug concentration in vehicle and skin, respectively. $D_{vehicle}$ and D_{skin} are the effective diffusion coefficient of the drug in vehicle and skin, respectively. $L_{vehicle}$ and L_{skin} are the thickness of vehicle and skin, respectively. $K_{skin/vehicle}$ is the partition coefficient of the drug from vehicle to skin.

基剤中での位置(x)、時間(t) における薬物濃度($C_{vehicle}$) は Fick の第 2 法則より、以下の式 (1) で表わされる。

$$\frac{\partial C_{vehicle}}{\partial t} = D_{vehicle} \frac{\partial^2 C_{vehicle}}{\partial x^2} \dots \dots \dots (1)$$

ここで $D_{vehicle}$ は、薬物の基剤中における有効拡散係数である。

同様に皮膚中での位置(x)、時間(t) における薬物濃度(C_{skin})は、式(2)で表される。

$$\frac{\partial C_{skin}}{\partial t} = D_{skin} \frac{\partial^2 C_{skin}}{\partial x^2} \dots \dots \dots (2)$$

ここで D_{skin} は、薬物の皮膚中における有効拡散係数である。

また、初期条件と境界条件は以下のようなになる。

初期条件

$$t = 0$$

$$-L_{vehicle} < x < 0 \quad C_{vehicle} = C_0$$

$$0 < x < L_{skin} \quad C_{skin} = 0 \dots \dots \dots (3)$$

境界条件

$$t > 0 \quad x = -L_{vehicle} \quad C_{vehicle,i} = C_{vehicle,i+1}$$

$$x = 0 \quad C_{skin} = K_{skin/vehicle} \cdot C_{vehicle} \quad \text{and} \quad D_{vehicle} \frac{dC_{vehicle}}{dx} = D_{skin} \frac{dC_{skin}}{dx}$$

$$x = L_{skin} \quad C_{skin} = 0$$

$$\dots \dots \dots (4)$$

ここで $L_{vehicle}$ および L_{skin} は、各々基剤および皮膚の厚みを表す。また、 $K_{skin/vehicle}$ は、薬物の基剤から皮膚への分配係数である。さらに、位置(x)、時間(t)における $C_{vehicle}$ および C_{skin} は、式 (1)、(2) と初期条件 (式 (3)) および境界条件 (式 (4)) によって算出される。

また、Fick の第 2 法則である式(1)および(2)は、差分法により以下の式(5)および(6)式に変換

できる。

$$\frac{dC_{i,j}}{dt} = \frac{1}{\Delta t} (C_{i,j+1} - C_{i,j}) \dots \dots \dots (5)$$

$$\frac{d^2C_{i,j}}{dx^2} = \frac{1}{\Delta x^2} (C_{i-1,j} - 2C_{i,j} + C_{i+1,j}) \dots \dots \dots (6)$$

ここで、 $C_{i,j}$ は基剤または皮膚における i 番目の位置の j 番目の時間の濃度を表す。また、 Δx は $x_{i+1}-x_i$ を表し、 Δt は $t_{j+1}-t_j$ を表す。

式 (5)、(6) を式 (1) または (2) に代入すると以下のようになる。

$$C_{vehicle,i,j+1} = rD_{vehicle}C_{vehicle,i-1,j} + (1-2rD_{vehicle})C_{vehicle,i,j} + rD_{vehicle}C_{vehicle,i+1,j} \dots (7)$$

$$C_{skin,i,j+1} = rD_{skin}C_{skin,i-1,j} + (1-2rD_{skin})C_{skin,i,j} + rD_{skin}C_{skin,i+1,j} \dots \dots \dots (8)$$

ここで、 r は $\Delta t/\Delta x^2$ を示す。

上記の数式を用いた計算は、表計算ソフト Microsoft® Excel を用いて行った。なお、基剤および皮膚の分割数は 10 とし、位置(x)および時間(t) の濃度を平均することでそれぞれ平均基剤中濃度および平均皮膚中濃度として算出した。また、 $D_{skin} \cdot \Delta t/\Delta x^2$ が 0.5 以下となるように Δt を設定した。分配係数($K_{skin/vehicle}$)と拡散係数($D_{vehicle}$ および D_{skin})は、薬物の平均基剤中濃度および平均皮膚中濃度の実測値を非線形最小二乗法による curve-fitting にて算出し、AUC は curve-fitting-時間曲線下面積より求めた。

第3節 結果および考察

<結果>

1. OCT 軟膏の皮膚吸収プロファイル

Figure 9 a および b にヘアレスマウスに OCT 軟膏を塗布した際の OCT の皮膚吸収推移（プロファイル）を示す。Figure 9 a に塗布後 1、2、4、8 および 24 時間の 5 ポイントによる解析結果を、Figure 9 b に塗布後 1 および 4 時間の 2 ポイントによる解析結果を示す。これらのデータが示す通り、5 ポイントおよび 2 ポイントの simulation curve はいずれも良好に fitting し、また算出された分配係数 ($K_{skin/vehicle}$) および拡散係数 (D_{skin}) は、ほぼ同じ値を示すことが確認された。これより、母集団薬物動態試験、すなわち population PK の考え方が本件に準用でき、不要な動物試験を最小限に留めることが可能と考えられた。したがって、OCT の皮膚中動態パラメータを解析するに際しては、塗布後 1 および 4 時間の 2 ポイントで十分評価し得ると判断された。

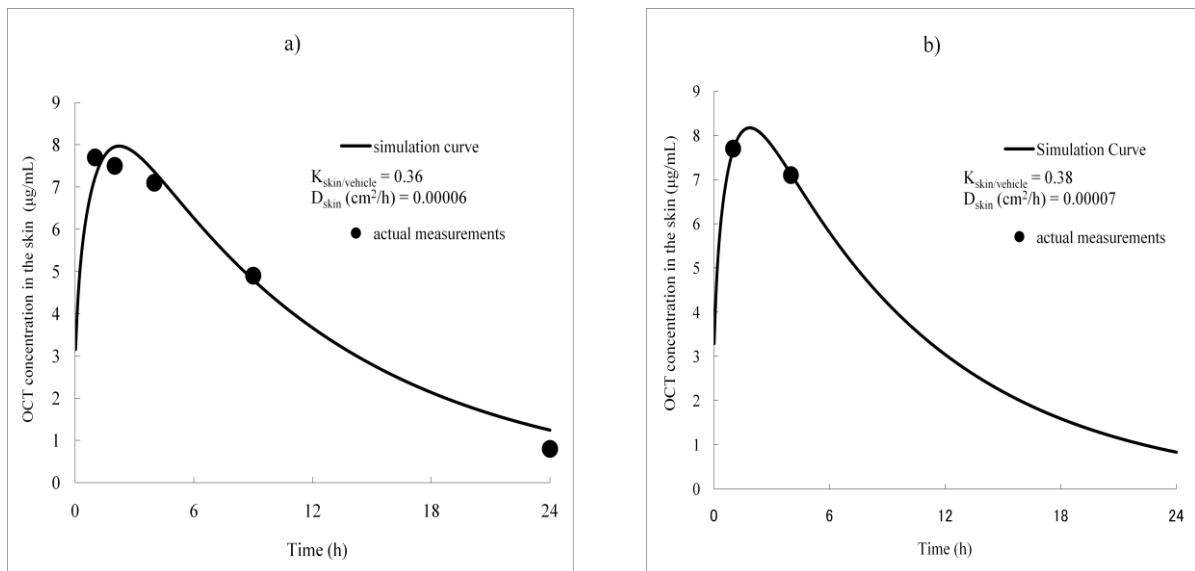


Figure 9 *In vivo* hairless mouse skin permeation profile of OCT after application of OCT ointment.

- Permeation profile analyzed by five sampling points.
- Permeation profile analyzed by two sampling points.

Lines show the theoretical curves evaluated by a two-layered diffusion model.

Each value represents the mean (n=3).

2. OCT 溶液（薬物溶液）からの皮膚吸収性

極性の異なる溶剤を用いて調製した OCT 溶液（25 $\mu\text{g/g}$ ）をヘアレスマウス頸背部に一定量塗布した際の、塗布 4 時間後における OCT のみかけの吸収量を Figure 10 a に、皮膚中 OCT 量を Figure 10 b に示す。親油性の溶剤である MCT および IMP を塗布した場合、みかけの OCT 吸収量は塗布後 4 時間で約 80% と比較的高いものの、皮膚中 OCT は検出されなかった。なお、本図には示していないが、OCT 含有 MCT 溶液を塗布後の皮膚中 OCT の最高量は投与 30 分後にみられ、3–6% of dose であった。これらより、親油性の溶剤である MCT および IPM を媒体として OCT を塗布した場合、OCT のほとんどが（多くが）速やかに皮膚に移行し、皮膚移行後の消失も非常に速いことが示された。一方、親水性の溶剤である 1,3-BG および PG を塗布した場合、みかけの OCT 吸収量は塗布 4 時間後で約 40–50% となり、MCT および IPM の場合に比べて低いものの、投与 4 時間後の皮膚中には投与量の約 5–12% の OCT が検出された。これらの結果より、親水性の溶剤である 1,3-BG および PG を媒体として OCT を塗布した場合は、皮膚移行後の消失が MCT および IPM の場合に比べて緩やかであり、OCT が皮膚中に留まり易い傾向にあったことより、みかけの OCT の吸収量は MCT および IPM に比較して低いことが示された。

以上、OCT を単独の溶剤に溶かした系を用いた検討により、OCT の皮膚吸収プロファイルは溶剤の種類によって大きくことなることが明らかとなった。

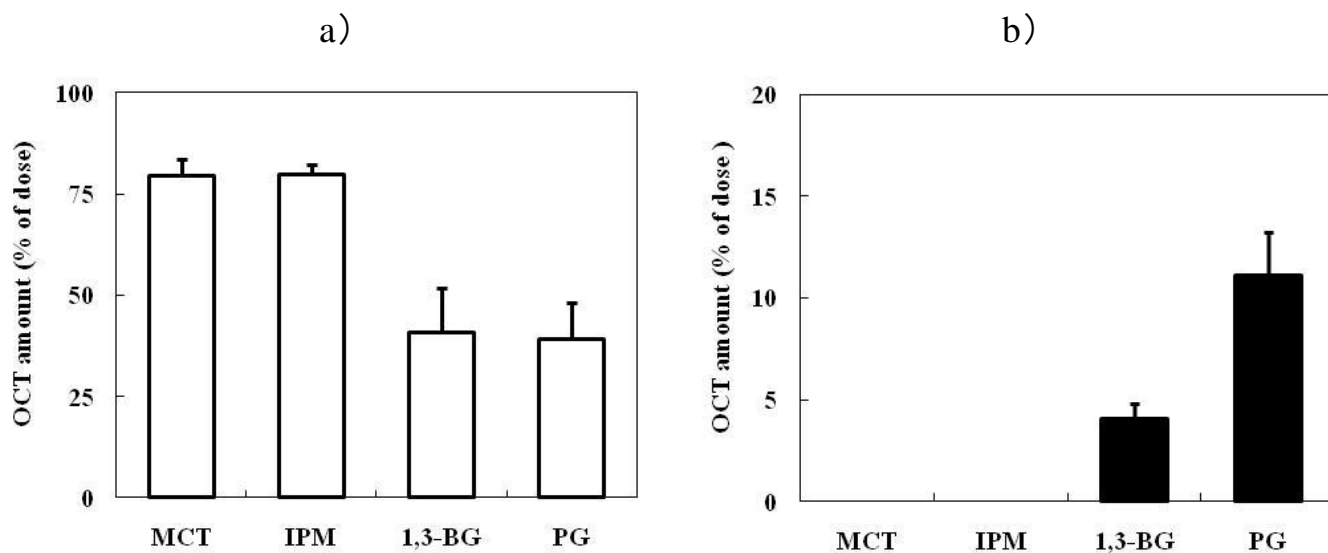


Figure 10 *In vivo* hairless-mouse skin permeation profile of OCT after application of various solutions.

a) Apparent OCT amount absorbed over 4 h after application

b) OCT amount in skin at 4 h after application

Each value represents the mean \pm S.D. (n=3).

3. MCT を配合する OCT ローションからの皮膚吸収性

Table 3 に、実施した処方スクリーニングの代表例として、同一処方系において MCT を 1%、5% および 20% 配合させた OCT ローションをヘアレスマウス皮膚に塗布した際の 1 および 4 時間後の皮膚中 OCT 量の測定結果を示す。本表には、OCT 軟膏を同様に塗布した結果も比較対照として併記する。Table 3 に示す通り、塗布 1 および 4 時間後の皮膚中 OCT 量はいずれも Rp.1 > Rp.2 > Rp.3 の順であり、処方中の MCT 配合量の増加に伴い、皮膚中 OCT 量が低下することが分かった。また、Figure 11 に二層拡散モデルを用いた simulation curve およびパラメータ解析結果を示す。これより、MCT の処方中の配合量が 1% → 5% → 20% と増加するに伴い、 $K_{skin/vehicle}$ は低下、 D_{skin} は増加、ならびに AUC は低下することが示された。

Table 3 OCT amount in hairless-mouse skin after application of OCT lotions containing MCT

Ingredients		OCT ointment	Rp.1	Rp.2	Rp.3
Drug (OCT)		0.0025	0.0025	0.0025	0.0025
Dehydrated Ethanol		q.s.	q.s.	q.s.	q.s.
White Petrolatum		q.s.	—	—	—
MCT		q.s.	1	5	20
Polyoxyethylene		—	1	1	1
Glyceryl Monostearate		—	1.16	1.16	1.16
Diisopropanolamine		—	10	10	10
1, 3-BG		—	0.2	0.2	0.2
Carboxyvinyl Polymer		—	q.s.	q.s.	q.s.
Stabilizer etc.		—	q.s.	q.s.	q.s.
Total		100	100	100	100
OCT amount in skin * 1	1 h	13.7±3.3	7.4±1.4	6.6±2.0	2.8±0.5
(% of Dose)	4 h	10.2±2.2	6.6±0.6	3.6±0.2	1.2±0.5

* 1: OCT amount in skin is represented as the mean±S.D. (n=3).

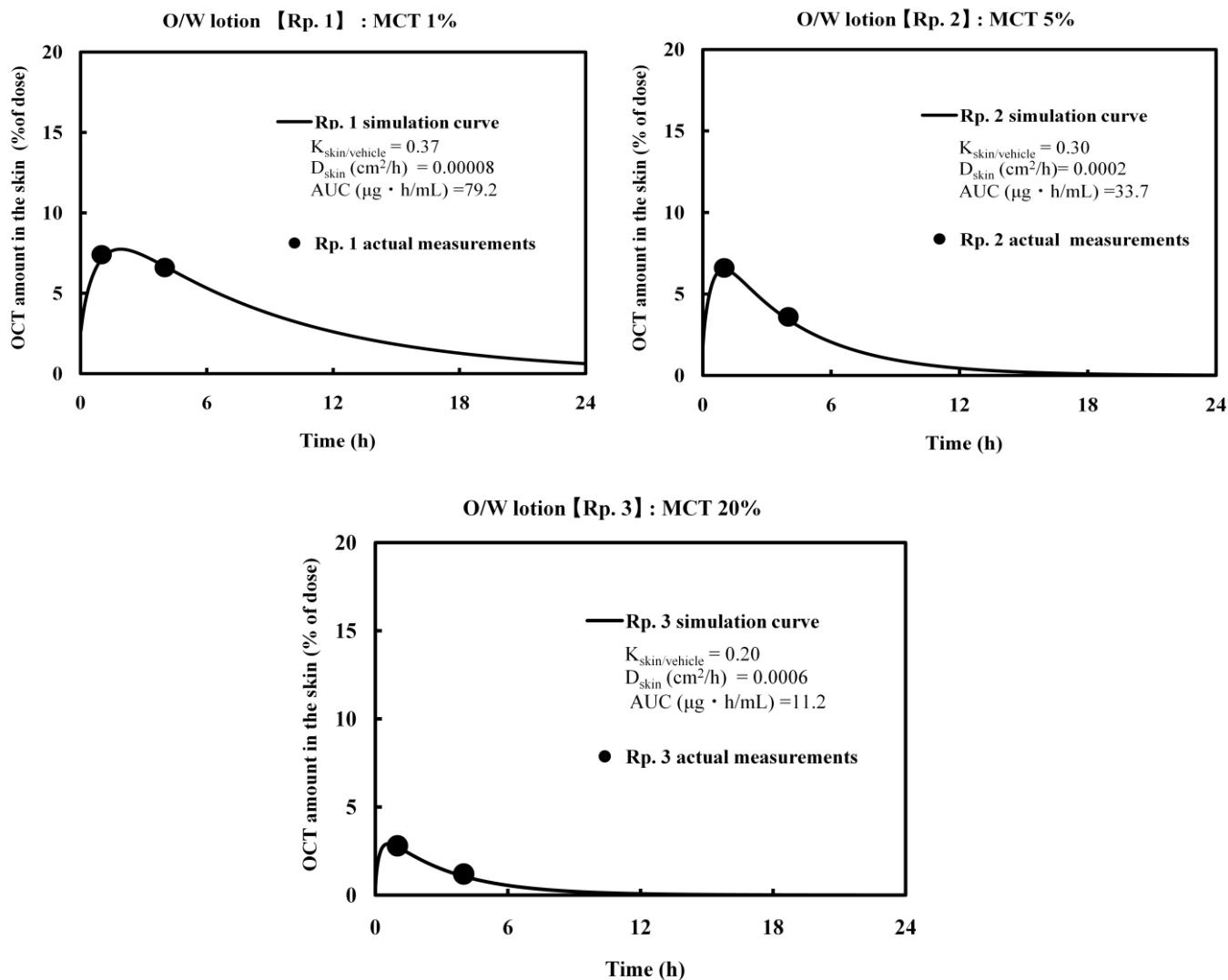


Figure 11 Simulation curves and dermatopharmacokinetic parameters of OCT containing O/W lotions [Rp.1-Rp.3].

Lines show the theoretical curves evaluated by a two-layered diffusion model.

Each value represents the mean (n=3).

4. 1,3-BG を配合する OCT ローションからの皮膚吸収性

Table 4 に、実施した処方スクリーニングの代表例として、同一処方系において 1,3-BG を 10% および 45%、あるいは 10% および 20% 配合させた OCT ローションをヘアレスマウス皮膚に塗布後の 1 および 4 時間の皮膚中 OCT 量を示す。本表には、OCT 軟膏を同様に塗布した結果も比較対照として併記する。Table 4 に示す通り、塗布 1 時間後の皮膚中 OCT 量は Rp.4 > Rp.5 および Rp.6 > Rp.7、塗布 4 時間後の皮膚中 OCT 量は Rp.4 < Rp.5 および Rp.6 < Rp.7 の順であり、処方中の 1,3-BG 配合量の増加に伴い、1 時間後の皮膚中 OCT 量は低下、4 時間後の皮膚中 OCT 量は増加することが分かった。また、Figure 12 に二層拡散モデルを用いた simulation curve およびパラメータ解析結果を示す。これより、処方中の 1,3-BG の配合量が 10% → 45%、あるいは 10% → 20% と増加するに伴い、 $K_{skin/vehicle}$ は増加、 D_{skin} は低下、ならびに AUC は増加することが示された。

以上、OCT の皮膚吸収性に関しては、先に示した単独で得られた皮膚吸収プロファイルと同様、処方中の MCT と 1,3-BG の添加（添加量の増減）によって異なる傾向を示すことが明らかとなった。

Table 4 OCT amount in hairless-mouse skin after application of OCT lotions containing 1,3-BG

Ingredients	OCT ointment	Rp.4 * 3	Rp.5	Rp.6	Rp.7	
Drug (OCT)	0.0025	0.0025	0.0025	0.0025	0.0025	
Dehydrated Ethanol	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	
White Petrolatum	q.s.	—	—	—	—	
MCT	q.s.	1	1	5	5	
Polyoxyethylene	—	1	1	0.2	0.2	
Glyceryl Monostearate	—	1.16	1.16	1.16	1.16	
Diisopropanolamine	—	10	45	10	20	
1, 3-BG	—	0.2	0.2	0.2	0.2	
Carboxyvinyl Polymer	—	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	
Stabilizer etc.	—	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	
Total	100	100	100	100	100	
OCT amount in skin * 2	1h	13.7±3.3	7.4±1.4	2.6±0.6	8.6±2.3	5.4±1.2
(% of Dose)	4h	10.2±2.2	6.6±0.6	10.3±1.8	7.4±1.4	10.4±2.9

* 2: OCT amount in skin represents the mean±S.D. (n=3).

* 3: Rp.4 is the same formulation as Rp.1.

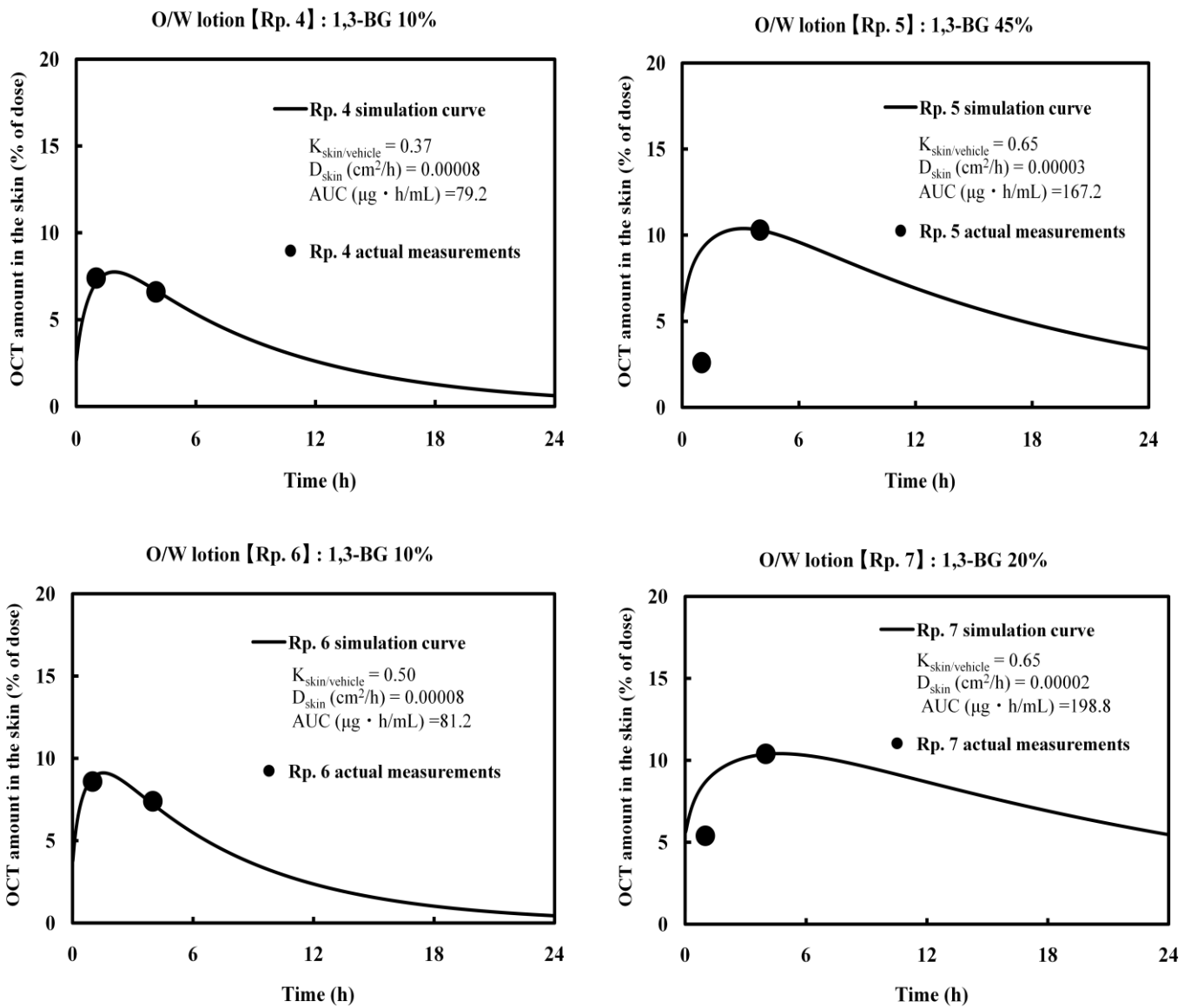


Figure 12 Simulation curves and dermatopharmacokinetic parameters of OCT containing O/W lotions [Rp.4-Rp.7].

Lines show the theoretical curves evaluated by a two-layered diffusion model.

Each value represents the mean (n=3).

Rp.4 is the same formulation as Rp.1.

5. OCT ローションの薬物動態学的評価

上記までの検討結果より推察されることは、OCT の溶剤として用いた MCT と 1,3-BG の配合比を調節することによって、製剤からの OCT の皮膚内移行性がコントロールできることである。そこで、これらの溶剤の配合量を調節して、OCT 軟膏との生物学的同等性の確保を目的とした処方設計を行った。その結果、OCT 軟膏に最も近い AUC を示した OCT ローションの候補処方（後述する Table 18 の処方）が得られた。当該 OCT ローションをヘアレスマウス皮膚に塗布した際の皮膚中 OCT 量の測定結果を Figure 13 に、製剤中の残余 OCT 量（未吸収 OCT 量）を Figure 14 に示す。また、実測値より求めた薬物動態パラメータの一覧を Table 5 に示した。これらの図表に示す通り、僅かに剤形による違いは認められたものの、設計した OCT ローションは、油性軟膏剤である OCT 軟膏とほぼ同等の皮膚中濃度推移を示すことが確認された。

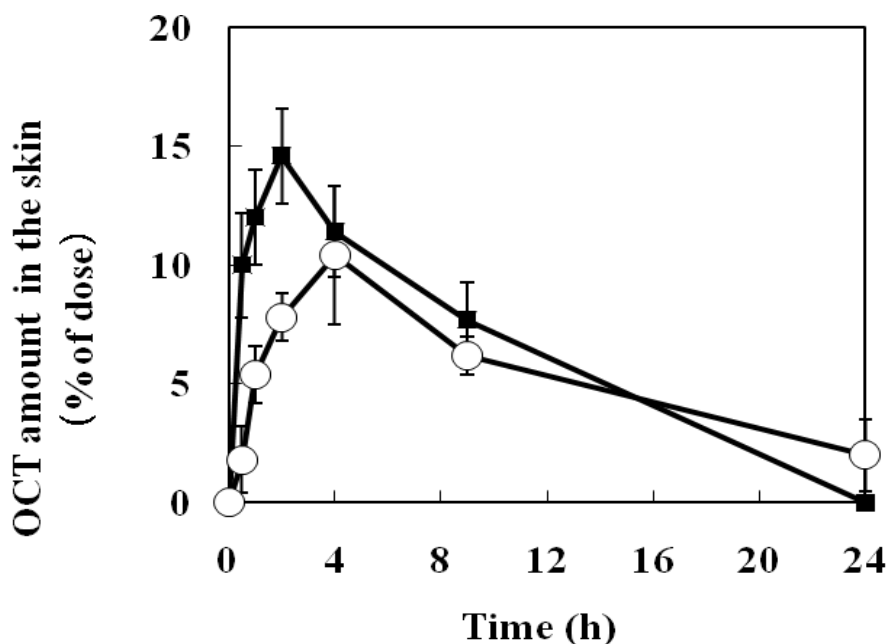


Figure 13 Time-course of the OCT amount in hairless-mouse skin

■ : OCT ointment, ○ : OCT lotion

Data represent the mean \pm S.E. of 6 experiments.

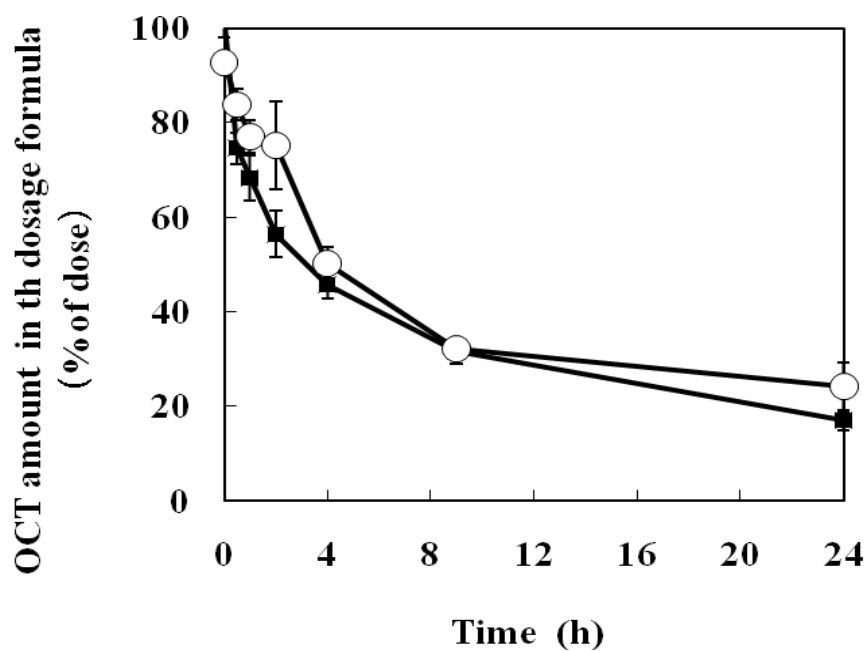


Figure 14 Time-course of the OCT amount in the dosage formula on the hairless-mouse skin

■ : OCT ointment, ○ : OCT lotion

Data represent the mean \pm S.E. of 6 experiments.

Table 5 Dermatopharmacokinetic parameters when applying OCT test products on hairless-mouse skin

OCT test products	Tmax (h)	Cmax (ng/site)	AUC 0→24 h (ng · h/site)
OCT ointment	2	73.75 \pm 10.18	769.8
OCT lotion	4	53.38 \pm 14.85	664.2

6. OCT ローションの薬理的評価

OCT 軟膏との薬物動態学的な同等性が確認された OCT ローションを用いて、薬理的な効果を確認した。表皮細胞の増殖指標である ODC は、ポリアミン生合成の律速酵素で細胞増殖の初期マーカーであり²⁹⁾、乾癬治療薬である活性型ビタミン D₃ 製剤が ODC 活性誘導を抑制することが報告されている³⁰⁾。一方、表皮細胞の分化指標である TGase は、皮膚の角質形成に関与する最終分化マーカーであり³¹⁾、活性型ビタミン D₃ が TGase 活性誘導を亢進することが報告されている^{32), 33), 34)}。そこで、ヘアレスマウスの背部皮膚に OCT 軟膏およびそのプラセボ、OCT ローションおよびそのプラセボの 4 種の被験製剤を塗布し、表皮細胞増殖抑制作用および表皮細胞分化誘導作用を評価した。得られた ODC 活性誘導抑制作用を Figure 15 に示す。本図より、OCT 軟膏の塗布群 (1.585 ± 0.350 nmol CO₂/hr/mg-protein) と OCT ローションの塗布群 (1.505 ± 0.297 nmol CO₂/hr/mg-protein) の ODC 活性の平均値の差の 90% 信頼区間は、OCT 軟膏塗布群の ODC 活性の平均値の $\pm 20\%$ 範囲内であり、OCT 軟膏と OCT ローションの表皮細胞増殖抑制作用は生物学的に同等であると判断された。また、TGase 活性誘導作用に関する試験結果を Figure 16 に示す。本図においても、OCT 軟膏群 (570.7 ± 100.0 dpm/ μ g-protein) と OCT ローションの塗布群 (531.4 ± 125.2 dpm/ μ g-protein) の TGase 活性の平均値の差の 90% 信頼区間は、OCT 軟膏塗布群の TGase 活性の平均値の $\pm 20\%$ 範囲内であり、OCT 軟膏と OCT ローションの表皮細胞分化誘導作用は生物学的に同等であると判断された。

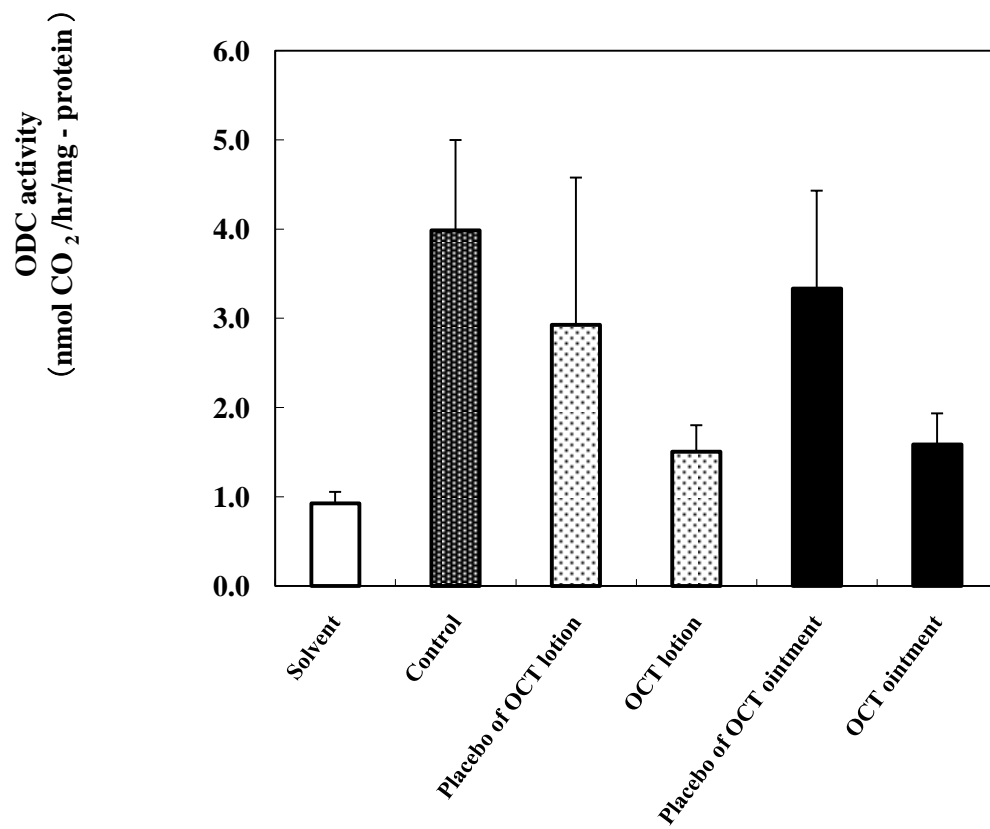


Figure 15 TPA-induced epidermal ODC activity by OCT lotion in comparison with OCT ointment in hairless-mouse

Data represent the mean \pm S.E. of 6 experiments.

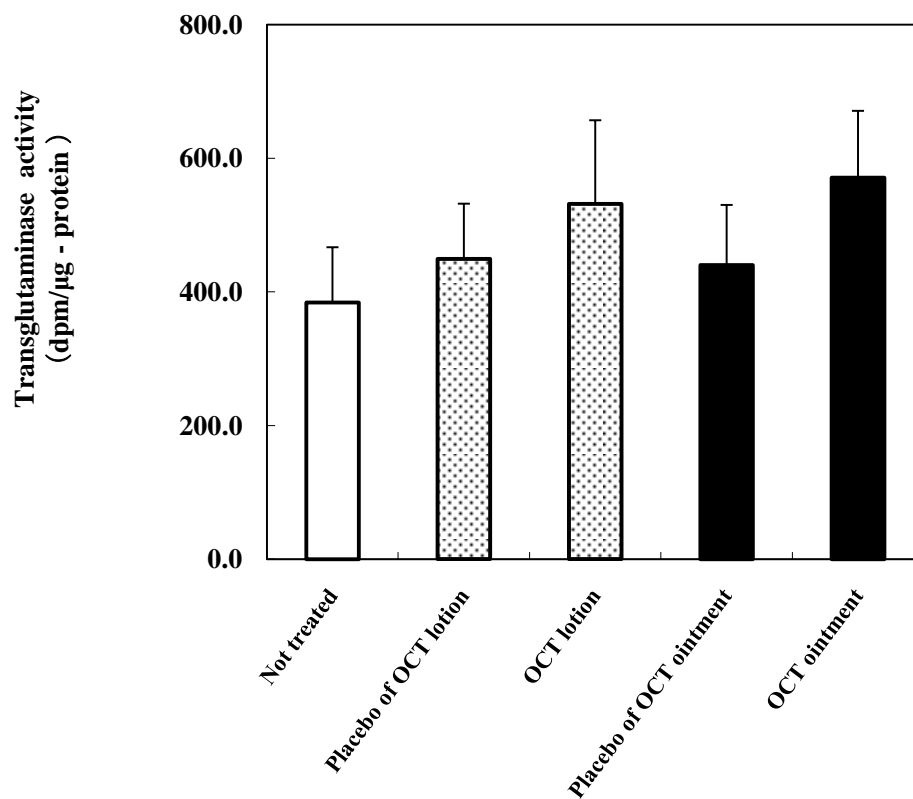


Figure 16 Epidermal TGase activity by OCT lotion in comparison with OCT ointment in hairless-mouse

Data represent the mean \pm S.E. of 6 experiments.

<考察>

これまでの実験結果および二層拡散モデルの解析結果に基づき、さらに外用剤の経皮吸収メカニズムとその制御法について考察を行った。薬物の経皮透過プロセスにおいては、評価すべき二つのパラメータ、すなわち熱力学的な活量と分配係数がある。前者のパラメータは、薬物の基剤（溶剤）中からの逃避性を評価する場合に有用であるが、基剤（溶剤）が皮膚に影響を及ぼす場合には、皮膚における熱力学的活量係数を同時に評価する必要がある。一方、後者においては、分配係数が〔基剤中の熱力学的活量係数／皮膚中の熱力学的活量係数〕で表記されることから、基剤中と皮膚中に対しての影響を同時に評価することが可能である。したがって、本研究においては、OCTの経皮吸収性に及ぼす基剤（溶剤）の効果を、分配係数を主な指標として評価した。

また、OCTは表皮および真皮において数種の代謝物に変換（分解）されることが報告されており³⁵⁾、OCTの皮膚吸収性を正確に評価するためには、代謝による影響を考慮する必要がある。しかしながら、OCTの皮膚吸収における最大の障壁は角層、すなわち、外用基剤が直接接触する皮膚の最外層であることが報告されている³⁵⁾。したがって、基剤（溶剤）により薬物透過特性を把握する場合には、基剤（溶剤）が実質的に浸透し得る角層での影響を評価することで充分と考えられる。そこで、本研究においては、皮膚内の代謝による影響を考慮せず、OCTの経皮吸収性のみに着目して、以下の考察を行った。

7. OCTの皮膚吸収性に及ぼす基剤（溶剤）の影響

Figure 17に局所外用剤を皮膚に塗布した際の薬物の皮膚への分配および拡散の模式図を示す。この図において、(1)は溶剤が角層に全く浸透しないケースを、(2)は溶剤が角層に浸透するケースを示す。一般に、製剤処方中の溶剤（溶解剤）の量が多くなるにしたがって、製剤中の薬物溶解能が高まるため、薬物の製剤からの放出性（逃避性）は小さくなることが知られている³⁶⁾。したがって、(1)のケースを前提とした場合は、処方中の溶剤配合量が増加するにたが、製剤からの放出性（逃避性；Escape Tendency）が小さくなり、皮膚中OCT量が低下するはずである。しかしながら、前節までで示した今回の結果は(1)のケースだけでは説明で

きなかった。すなわち、Table 3 および 4（あるいは Figure 11 および Figure 12）に示したように、処方中の溶剤配合量を増減させた場合における皮膚中 OCT 量の変化が、使用した溶剤の種類によって異なることが示された。また、基剤と皮膚との相互作用に関しては、量の多少の違いはあるものの、処方中のすべての成分が角層内に分配し得ることが報告されている¹²⁾。これらの結果と報告を踏まえると、皮膚に製剤を塗布した場合には Figure 17 に示す (2) の状態が起こり得る現象として捉えた上で、処方設計を実施する必要があると考えられる。

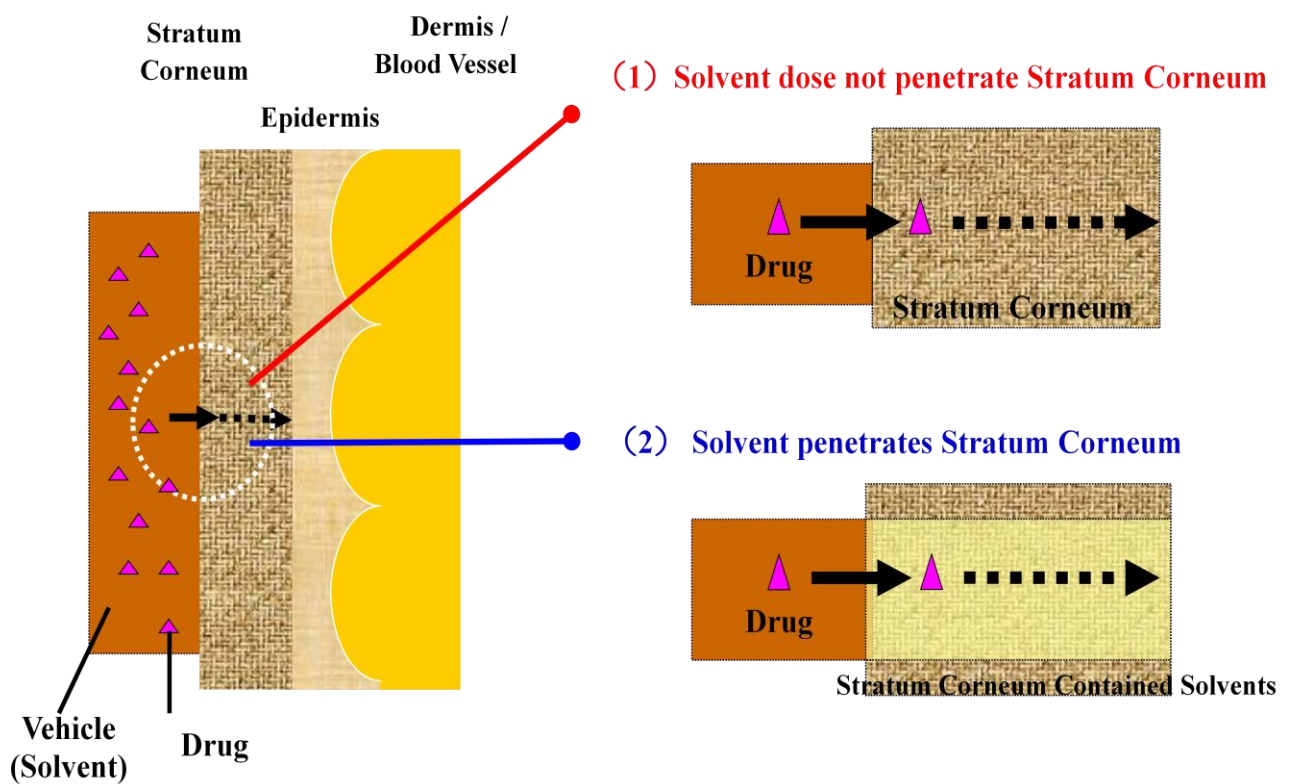


Figure 17 Schematic diagram of percutaneous absorption.

Solid arrow: Drug partition from vehicle to skin

Dotted arrow: Drug diffusion across the skin

実際、Figure 11 に示した二層拡散モデルを用いた解析結果では、製剤中の MCT 量が少ないほど $K_{skin/vehicle}$ は増加、 D_{skin} は減少するため、皮膚中 OCT 濃度は上昇し、逆に、製剤中の MCT 量が多いほど、 $K_{skin/vehicle}$ は減少、 D_{skin} は増加するため皮膚中 OCT 濃度が低下することが分った。また、Figure 12 に示した結果より、製剤中の 1,3-BG 量が少ないほど、 $K_{skin/vehicle}$ は減少、 D_{skin} は増加するため皮膚中 OCT 濃度が低下し、反対に製剤中の 1,3-BG 量が多いほど、 $K_{skin/vehicle}$ は増加、 D_{skin} は減少するため皮膚中 OCT 濃度が上昇することが分った。

これらより、溶剤の種類とその配合量によって OCT 皮膚中濃度推移が異なる要因として、溶剤の種類によって薬物の皮膚への分配 ($K_{skin/vehicle}$) および皮膚中での薬物の拡散 (D_{skin}) に与える影響が異なるためと考えられた。

8. 基剤（溶剤）効果；OCTの分配および拡散に対する作用

前項までに、MCTの配合量を増加した場合には、皮膚中でのOCTの拡散が促進され、1,3-BGの配合量を増加した場合には、皮膚へのOCTの分配が促進されることが分った。これらの現象をより詳細に把握するために、溶剤配合量を大小（多少）に設定して、分配係数と拡散係数の二つのパラメータについて考察した。以下に、分配係数および拡散係数に関する計算式を示す。

溶剤が少ない場合 (*Low content : L*) :

$$K_{skin/vehicle} (L) = C_{skin} (L) / C_{vehicle} (L)$$

$$D_{skin} (L) \approx D / \tau (L)$$

溶剤が多い場合 (*High content : H*) :

$$K_{skin/vehicle} (H) = C_{skin} (H) / C_{vehicle} (H)$$

$$D_{skin} (H) \approx D / \tau (H)$$

ここで、 $K_{skin/vehicle}$ は薬物の製剤から皮膚への分配係数、 C_{skin} は皮膚中の薬物濃度、 $C_{vehicle}$ は製剤中の薬物濃度、 D_{skin} は皮膚中での薬物の拡散係数（見かけの拡散係数）、 D は薬物の真の拡散係数、 τ は皮膚透過経路の曲路率を示す。薬物の拡散は、本来分子の形状および大きさにのみで決定されるので、真の拡散係数 (D) は変化しない。しかしながら、一定の厚さを持ち、透過経路が曲折する皮膚中での拡散を考える場合は、曲路率 (τ) を考慮した見かけの拡散係数 ($D_{skin} \approx D/\tau$) によって皮膚中での実際の薬物拡散を捉えることができる^{37), 38), 39)}。

上記を踏まえ、次に分配係数および拡散係数の二つのパラメータに対するMCTと1,3-BGの及ぼす効果（影響）について考察を行った。

(1) MCT の効果

Figure 11 で示したように、MCT の配合量が増えるに従い分配係数が低下した。すなわち、 $K_{skin/vehicle} (H) < K_{skin/vehicle} (L)$ となり、この式を展開すると以下の通りとなる。

$$C_{skin} (H) / C_{vehicle} (H) < C_{skin} (L) / C_{vehicle} (L)$$

$$[C_{skin} (H) / C_{skin} (L)] / [C_{vehicle} (H) / C_{vehicle} (L)] < 1$$

上式より、MCT の配合量の増加に伴う分配係数の低下は、皮膚中薬物濃度の変化比 ($C_{skin} (H) / C_{skin} (L)$) が製剤中薬物濃度の変化比 ($C_{vehicle} (H) / C_{vehicle} (L)$) を下回る現象と解釈できる。

一方、拡散係数は、MCT の配合量が増えるに従い上昇した。すなわち、 $D_{skin} (H) > D_{skin} (L)$ となり、この式を展開すると以下の通りとなる。

$$D / \tau (H) > D / \tau (L)$$

$$\tau (L) > \tau (H)$$

上式より、MCT の配合量の増加に伴う拡散係数の増大は、皮膚中の曲路率が低下していると解釈でき、MCT は OCT の拡散促進剤として作用していると捉えることができる。

(2) 1,3-BG の効果

Figure 12 で示したように、1,3-BG の配合量が増えるに従い分配係数が上昇した。すなわち、 $K_{skin/vehicle} (H) > K_{skin/vehicle} (L)$ となり、この式を展開すると以下の通りとなる。

$$C_{skin} (H) / C_{vehicle} (H) > C_{skin} (L) / C_{vehicle} (L)$$
$$[C_{skin} (H) / C_{skin} (L)] / [C_{vehicle} (H) / C_{vehicle} (L)] > 1$$

上式より、1,3-BG の配合量の増加に伴う分配係数の増加は、皮膚中薬物濃度の変化比 ($C_{skin} (H) / C_{skin} (L)$) が、製剤中薬物濃度の変化比 ($C_{vehicle} (H) / C_{vehicle} (L)$) を上回る現象であると解釈でき、1,3-BG は OCT の分配促進剤として作用している捉えることができる。

一方、拡散係数は、1,3-BG の配合量が増えるに従い低下した。すなわち、 $D_{skin} (H) < D_{skin} (L)$ となり、この式を展開すると、以下の通りとなる。

$$D / \tau (H) < D / \tau (L)$$
$$\tau (L) < \tau (H)$$

上式より、1,3-BG の配合量の増加に伴う拡散係数の低下は、皮膚中の曲路率が増加する現象と解釈できる。

9. OCT の皮膚吸収に及ぼす薬物、溶剤および皮膚の極性の影響

前述の通り、薬物の経皮吸収においては、処方中の基剤（溶剤）が皮膚の角層に浸透することを前提とする。すなわち、基剤（溶剤）が角層に浸透し、その結果として製剤から角層に薬物が分配し、そして角層中を薬物が拡散すると考えた。そこで、薬物、基剤および皮膚の3者の親油性と親水性のバランスに着目し、前項で示した MCT および 1,3-BG による OCT の基剤から皮膚への分配および皮膚中拡散に対する影響についてさらに考察を行った。Table 6 に極性の指標となる OCT、溶剤および皮膚の溶解度パラメータを示す。

OCT の基剤から皮膚への分配性 ($K_{skin/vehicle}$) については、薬物、基剤（溶剤）および皮膚の溶解度パラメータにて示されるそれらの極性が 1,3-BG > OCT > 皮膚（角層） > MCT の順であることで説明できる。すなわち、処方中の MCT の配合量を増加させると、溶剤の皮膚（角層）への浸透が高まり、皮膚（角層）の極性が MCT 側に傾き OCT の極性と乖離するために、皮膚への OCT の親和性（分配）が低下する。これにより、皮膚への薬物の分配が下がり、前項で示したように、OCT の皮膚中薬物濃度の変化比が製剤中薬物濃度の変化比を下回るものと考えられる。一方、処方中の 1,3-BG の配合量を増加させた場合は、溶剤の皮膚（角層）への浸透が高まり、皮膚（角層）の極性が 1,3-BG 側に傾き OCT の極性に近づくために、皮膚への OCT の親和性が上昇する。これにより、皮膚への薬物の分配が高まり、前項で示したように、OCT の皮膚中薬物濃度の変化比が製剤中薬物濃度の変化比を上回るものと推測される。

また、OCT の皮膚中のみかけの拡散性 (D_{skin}) についても、薬物、溶剤および皮膚の溶解度パラメータにて示される極性が 1,3-BG > OCT > 皮膚（角質層） > MCT の順であることで説明できる。すなわち、処方中の MCT の配合量を増加させることにより、上述した皮膚（角層）と OCT の極性と乖離が生じ、一旦皮膚に分配された薬物の皮膚中での滞留性が低下するものと推察される。一方、処方中の 1,3-BG の配合量を増加させた場合は、上述したように皮膚（角層）と OCT の極性が近づき、一旦皮膚に分配された薬物の皮膚中での滞留性が上昇するものと推察される。なお、Table 4 において、1,3-BG の増量に伴い塗布 1 および 4 時間後の皮膚中 OCT 量の値の大小が逆転していること、ならびに Figure 12 のカーブフィッティングにおいて 1 時間が

低めに外れている理由として、溶剤の皮膚への浸透の遅れ（ラグタイム）が起因している可能性が推察された。

以上、OCTの経皮吸収においては、溶解度パラメータを指標に薬物、基剤（溶剤）および皮膚の極性の相互関係を把握し、基剤が皮膚（角層）に浸透した際の皮膚（角層）の極性変化を考察することで、基剤の種類の違いによるOCTの分配性および拡散性の変化を説明あるいは予測できると考えられた。

Table 6 Solubility parameters of OCT, solvents and skin

Drug, solvents, and skin	Solubility parameters (cal/cm ³) ^{1/2}
Drug (OCT)	12.5
Medium-chain fatty acid triglyceride (MCT) * 4	9.2
Isopropyl myristate (IPM)	8.5
1, 3-Butylen glycol (1,3-BG)	14.8
Propylene glycol (PG)	15.9
Skin	9.7 - 10

* 4: MCT is triglyceride of straight chain fatty acid ; CH₃ (CH₂)_nCOOH (n=4 - 10). In this study, the repeated number of polyethylene (n) is assumed 7 for calculating the solubility parameter.

10. 溶解度パラメータを利用した局所皮膚外用剤の設計

血中に入り全身作用を期待する経皮吸収型製剤の場合は、分配係数および拡散係数を共に高めることが薬物の血中濃度上昇（確保）に有用と考えられる。しかしながら、皮膚局所で薬効を示す外用剤では、親油性溶剤（MCT；中鎖脂肪酸トリグリセリド、IPM；ミリスチン酸イソプロピル）を用いた例で示したように（Figure 10）、透過促進剤として知られている基剤の配合あるいは増量が必ずしも皮膚中濃度を高めることに繋がらないことがある。局所皮膚外用剤においては、薬物の経皮吸収性に及ぼす基剤の影響をより詳細に把握し、コントロールした処方設計が必要となる。その際、上記で考察したように、皮膚に製剤を塗布した場合は、基剤（溶剤）が角層に浸透し得ることを前提とし、その状態で引き起こされる薬物、基剤（溶剤）および皮膚の極性変化より、薬物の皮膚への分配性を予測することができる。本研究では上記を勘案し、薬物および皮膚の極性を介して、これらの極性と対極する二つの溶剤を用い、それらの配合量を最適化することによって、異なる剤形間での生物学的同等性の確保を試みた。すなわち、MCTおよび1,3-BGのように極性の異なる溶剤のOCT経皮吸収特性を把握した上で、各溶剤の配合量を調節することにより、油性軟膏であるOCT軟膏とほぼ同等の皮膚中濃度推移を示すOCTローションを効率的に設計することが可能となった（Figure 13およびFigure 14、ならびにTable 5）。また、この薬物動態学的な同等性は、ODCおよびTGase活性を指標とした薬理学的評価によっても支持され、薬効発現部位までの薬物送達の視点からも、OCT軟膏とOCTローションが同等であることが推察された。

第4節 小括

本章では、OCT 軟膏の剤形追加品である OCT ローションを開発するに際し、*in vivo* 動物試験（非臨床試験）で生物学的同等性の確保が達成されることを目標として処方設計を行った。すなわち、極性の異なる溶剤を用いて調製した OCT 溶液からの皮膚吸収プロファイルを評価した上で、OCT の油性基剤（溶剤）である MCT、および水溶性基剤（溶剤）である 1,3-BG の処方中の配合量を変動させたときの皮膚中濃度を基にして、皮膚中薬物動態パラメータ（分配係数および拡散係数）を二層拡散モデルで解析した。その結果、OCT 皮膚中濃度推移が異なる要因は、基剤（溶剤）の種類とその配合量によって薬物（OCT）の皮膚への分配性および皮膚中での拡散性への影響が異なることが推察され、MCT は OCT の拡散性の促進作用を、1,3-BG は OCT の分配性の促進作用を有することが示された。これらの各溶剤効果は、基剤（溶剤）が角層中に浸透し、薬物（OCT）、基剤および皮膚の親油性と親水性のバランス（極性）を変化させたことに起因していると考えられた。したがって、相対的な極性の位置関係を溶解度パラメータにより把握することにより、異なる剤形間での生物学的同等性の確保を求められる処方設計に応用できることが推察された。これらの知見を基に、実際に MCT と 1,3-BG のような異なる極性（溶解度パラメータ）の基剤（溶剤）による薬物の経皮吸収特性を利用し、各溶剤の配合量を最適化することにより、OCT 軟膏と同等に皮膚中能動推移および薬効が期待できる OCT ローションの設計が達成できた。

以上、局所作用を示す皮膚外用剤の設計においては、薬物と皮膚の極性（溶解度パラメータ）を介して、これらの極性と対極する二つの溶剤（基剤）を用いること、すなわち分配促進および拡散促進作用を示し得る基剤（溶剤）を処方中に配合させ、それらの配合量を調節することで薬物の皮膚への親和性をコントロールすることが可能となり、皮膚中薬物量を効果的に調整できると考えられた。

第2章 非臨床データによる安全性の確保

第1章で示した医薬品の剤形追加における生物学的同等性の確保、すなわち先発剤形との有効性を確保することは医薬品が承認される上での要となる必要条件である。しかしながら、承認取得を得るための十分条件となるためには、安全性の確保と品質の確保が必要となる。本章では、二つ目の必須条件である局所皮膚外用剤の安全性の確保について、非臨床試験（動物試験）による研究結果を示す。外用剤の安全性の確保には、投与される薬剤による全身的副作用と局所的副作用の二つの側面を考慮する必要がある。全身的副作用は、投与される薬剤が皮膚を通過し循環血に移行し、全身的な有害作用の発現を評価することである。特に、OCT 製剤に関しては、主薬である OCT が全身循環系に大量移行した場合には、血中カルシウム濃度の上昇に伴う急性腎不全などの重篤な副作用が引き起こされるため、主薬の全身への暴露量への留意が必要である。一方、局所への副作用に関しては、薬剤の投与部位における有害事象として、有効成分の影響のみならず、基剤の皮膚への刺激性、感作性、光毒性等を評価する必要がある。そこで本章では、OCT ローションを皮膚に適用した際の薬物の暴露量が OCT 軟膏を上回らないことの確認を目的として、皮膚薬物動態学試験に則った暴露量試験を指標とした検討を行った。また、局所外用剤の安全性評価試験として、皮膚累積刺激性試験および眼粘膜一次刺激性試験を実施した。

第 1 節 実験方法

1. 実験材料

第 1 章、第 1 節、1. 実験材料 参照

2. 被験製剤（OCT 軟膏、OCT ローションおよび OCT ローションプラセボ）

第 1 章、第 1 節、3. OCT 溶液および製剤の調製方法 OCT ローションを参照。OCT 軟膏は、中外製薬株式会社より販売されているものを購入し、使用した。また、OCT ローションは候補処方（後述する Table 18 の処方）を使用した。OCT ローションプラセボは、OCT ローションの製法に準じて調製した。

3. 暴露量試験

動物実験は動物実験の指針；General Considerations for Animal Experiments にしたがって行った（以下、4. 皮膚累積刺激性試験、5. 眼粘膜一次刺激性試験も同様）。日本エスエルシー株式会社より購入した雄性ヘアレスマウス（Hos:HR-1、7 週齢、体重 25～35 g）の頸背部をうぶ毛トリマーで剃毛した後、投与日にエーテル麻酔下でメンディングテープを用いて頸背部を 0 回（未処理）、もしくは 10 回テープストリッピング（角層除去）した。未処理および角層除去したヘアレスマウスに被験製剤（OCT 軟膏、OCT ローション）を各々 20 mg/body（5 mg/cm²）単回塗布し、経時的な血漿中の OCT 濃度を LC-MS/MS により測定した。

4. 皮膚累積刺激性試験

日本チャールス・リバー株式会社より購入した雄性モルモット（Crj:Hartley、8 週齢、431～484g）、各群 6 例の背部皮膚に健常部および擦過部を設定し（投与部位：2.0 cm×2.0 cm）、被験製剤（OCT ローションおよびそのプラセボ）各々 0.1 mL を 24 時間閉塞投与し、これを 14 日間繰り返した。投与部位の皮膚反応は、閉塞投与終了後、Draize の判定基準⁴⁰⁾にしたがって毎日判定した。各判定日の平均評点（各被験製剤の健常および擦過部を総和して平均した皮膚反応の評点）の最高値が 2 以下の場合を「弱い刺激物」、2 を上回り 5 以下の場合を「中等度刺激物」、5 を上回る場合を「強い刺激物」と分類し、皮膚累積刺激性の評価とした。

5. 眼粘膜一次刺激性試験

北山ラベス株式会社より購入した雄性ウサギ (Kbs:NZW、3 カ月齢、2527~2831 g)、各群 9 例の右眼、下眼瞼結膜嚢内に被験製剤 (OCT ローションおよびそのプラセボ) の各 0.1 mL を単回投与した後、約 1 秒間閉眼させ、9 例中 3 例を投与約 30 秒後に洗眼した。投与後 1、24、48 および 72 時間、4 および 7 日目に Draize の評価基準⁴⁰⁾にしたがって判定し、Association française de normalisation⁴¹⁾の基準にしたがって眼粘膜一次刺激性を評価した。

第 2 節 結果および考察

1. 暴露量試験

ヘアレスマウス正常皮膚および損傷皮膚 (角層剥離皮膚) に OCT 軟膏と OCT ローションを各々塗布した際の全身循環血流に達する OCT 薬物量 (暴露量) を評価した。Figure 18 a に正常 (未処理) 皮膚、Figure 18 b に損傷皮膚への投与結果を示す。また、実測値より求めたこれらの薬物動態パラメータの一覧を Table 7 および Table 8 に示す。

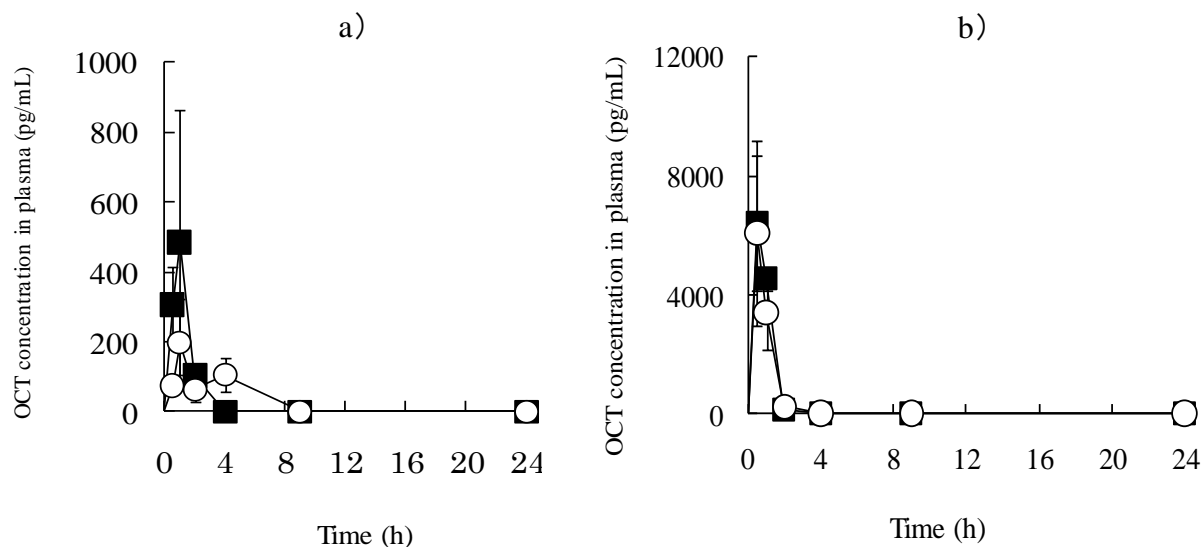


Figure 18 Time-course of OCT concentration in plasma after application of OCT ointment and OCT lotion on male hairless-mouse skin

a) On normal skin of male hairless-mouse

b) On damaged skin of male hairless-mouse

■ : OCT ointment, ○ : OCT lotion

Data represent the mean \pm S.E. of 6 experiments.

Table 7 Dermatopharmacokinetics parameters based on OCT concentration in plasma when applying test products on hairless-mouse normal skin

Test products	Tmax (h)	Cmax (pg/mL)	AUC 0→24 h (pg · h/mL)
OCT ointment	1	485±378	672
OCT lotion	1	196±127	648

Table 8 Dermatopharmacokinetics parameters based on OCT concentration in plasma when applying test products on hairless-mouse damaged skin

Test products	Tmax (h)	Cmax (pg/mL)	AUC 0→24 h (pg · h/mL)
OCT ointment	0.5	6403±2271	6793
OCT lotion	0.5	6068±3118	5912

Figure 18 a および Table 7 に示す通り、正常皮膚における血漿中濃度推移および薬物動態学的パラメータは、OCT 軟膏と OCT ローションでほとんど差はなかった。一方、Figure 18 b および Table 8 に示した損傷皮膚での血漿中濃度推移および薬物動態学的パラメータ解析結果より、損傷皮膚（角層除去皮膚）では正常皮膚（未処理の皮膚）に比べて約 10 倍の血漿中濃度（暴露）となり、OCT の経皮吸収性の透過障壁が角層であることが確認された。しかしながら、本損傷皮膚（角層除去皮膚）の場合においても、OCT 軟膏と OCT ローションでの差は認められなかった。以上より、OCT ローション適用後の血漿中薬物動態（全身血流への薬物移行性；暴露量）は、損傷（角質）の有無に関わらず、OCT 軟膏と同程度であることが分り、安全性（全身性副作用）に問題ないと推察された。

2. 皮膚累積刺激性試験および眼粘膜一次刺激性試験

OCT ローションの処方設計に際して選択した添加剤は、前述の通り、いずれも国内の医薬品に使用実績があり、その安全性が確認されている。しかしながら、設計した処方における安全性に関しては未知数の（データがない）ため、処方毎に製剤の局所適用における安全性を確認する必要がある。そこで、プラセボを対照とした OCT ローションのモルモット皮膚累積刺激性試験と、ウサギ眼粘膜一次刺激性試験を実施した。

皮膚累積刺激性試験の結果（Table 9）から、OCT ローションでは健常および擦過皮膚で各 5 例、そのプラセボでは健常および擦過皮膚で各 1 例に「ごく軽度の紅斑」が認められた。しかし、いずれの皮膚反応も投与後 4 日以降では認められず、Draize の判定基準⁴⁰⁾における「弱い刺激物」の分類に該当し、危惧すべき皮膚刺激性はないことが分かった。また、眼粘膜一次刺激性試験の結果（Table 10）から、試験を実施した観察期間を通して、非洗眼および洗眼動物の全例で角膜、虹彩および結膜に眼刺激反応は認められず、OCT ローションは Draize の判定基準⁴⁰⁾における「無刺激物」に分類された。

以上より、OCT ローションの局所皮膚外用剤としての高い安全性が示された。なお、局所外用剤の処方設計においては、局所的副作用の少ない基剤の選定が重要となるが、OCT ローションの設計においても、皮膚刺激性を極力低減するために、配合する添加剤は、医薬品の基剤として使用前例⁴²⁾のあるもので、かつ無臭性原料（グレード）を用いることを原則とした。また、一般的に刺激を誘発し易いとされる乳化剤（界面活性剤）の配合濃度を可能な限り低減させ、かつ保存剤であるパラベン類を添加しない処方となっており、これらのことが OCT ローションの低い刺激性を達し得た要因と考えられた。

Table 9 Results of cumulative irritation test in guinea pigs

Test article	Number of Animal	Skin condition	Mean score * 5					Evaluation
			Days					
			1	2	3	4	5–14	
OCT lotion	6	Intact	0.8	0.8	0.2	0.0	0.0	Mildly -irritant
		Abraded	0.8	0.5	0.3	0.0	0.0	
Placebo	6	Intact	0.2	0.2	0.2	0.0	0.0	Mildly -irritant
		Abraded	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	

* 5: [Total scores] / [Number of administration sites]

Table 10 Results of primary eye irritation test in rabbits

Test article	Treatment	Number of Animal	MOI* 6						AOI * 7	Evaluation
			Time after application							
			1 h	24 h	48 h	72 h	4 d	7 d		
OCT lotion	Non-rinsed	6	0	0	0	0	0	0	0	Non-irritant
	Rinsed	3	0	0	0	0	0	0	0	Non-irritant
Placebo	Non-rinsed	6	0	0	0	0	0	0	0	Non-irritant
	Rinsed	3	0	0	0	0	0	0	0	Non-irritant

* 6: Mean ocular irritation index (Total mean scores of each animal at each time)

* 7: Acute ocular irritation index (Maximum of MOI)

第3節 小括

局所皮膚外用剤である OCT ローションの全身的な安全性を評価する試験として、ヘアレスマウス角層のテープストリップ処理の有無（正常皮膚 vs 損傷皮膚）による血漿中 OCT 量を測定した。その結果、損傷皮膚の場合、未処理の皮膚に比べて 10 倍以上の血漿中薬物濃度が示されたが、正常皮膚および損傷皮膚共に、OCT 軟膏と OCT ローションを塗布した際の血漿中 OCT 量の差は正常皮膚および損傷皮膚共にほとんどないことが確認された。これより、OCT ローションを塗布した際の全身的な副作用（暴露量）は、概ね OCT 軟膏と同程度であり、安全性上問題ないことが分かった。また、OCT ローションの局所的な安全性を評価する試験として、皮膚累積刺激性試験および眼粘膜一次刺激性試験を行った。その結果、前者の試験結果では OCT ローションは「弱い刺激物」に分類され、危惧すべき皮膚刺激性がないことが分かった。また、後者の試験結果においても、観察期間を通じて刺激反応は認められず、OCT ローションは無刺激物に分類された。

これらの非臨床試験（動物試験）の結果より、Table 18 に示す OCT ローションは、暴露量、皮膚の累積刺激性および眼粘膜の一次刺激性に問題はなく、OCT 軟膏と同等の全身のおよび局所的な安全性を有した処方であると考察された。

第3章 臨床データによる有効性と安全性確保

第1章および第2章での結果より、OCT ローションの非臨床データ（動物試験）により有効性と安全性の確保が推定された。しかしながら、非臨床データ（動物試験）は、ヒトでの有効性および安全性を予測する試験結果（イントロ）に過ぎない。このことは、非臨床試験で見出された多くの医薬開発候補製剤が、臨床試験でドロップアウトしている事実からも明らかである。すなわち、製剤設計は、非臨床試験（動物試験）に留まらず、“ヒト臨床試験”において開発製剤の有効性と安全性を検証されて、初めて完了する。

そこで次に、非臨床試験による「有効性の確保」と「安全性の確保」の結果をさらに確かなものとするために、三つの臨床試験（治験）：皮膚安全性試験〔治験期間：2003年11月－2004年1月〕⁴³⁾、皮膚薬物動態学的試験〔治験期間：2004年8月～2005年3月〕⁴⁴⁾、および第III相臨床試験〔治験期間：2004年9月－2005年4月〕⁴⁵⁾を行った。なお、上記の三つの治験は「医薬品の臨床試験の実施の基準（GCP）」を遵守して実施した。

第1節 試験方法

1. 皮膚安全性試験

治験薬（OCT ローションおよび OCT ローシオンプラセボ）を用いた48時間の密閉パッチテストおよび光パッチテストを30人の健康成人で評価した。各被験者の上背傍脊椎部位の6箇所被験部位を設け、約0.03gのOCT ローションおよびOCT ローシオンプラセボをFinn Chamber®に入れ、Scanpor®テープを用いて貼付した。なお、皮膚刺激性を評価する貼付部位の影響を避けるため、貼付部位は順位サーキット方式変法により割り付けた。

(1) 48時間密封パッチテスト

治験薬を48時間密封貼付した後、Finn Chamber®を除去し、軽く清拭した。治験薬貼付部位の皮膚反応をチャンバー除去30分後およびチャンバー除去24時間後に本邦パッチテスト研究班による判定基準⁴⁶⁾（Table 11）に従い、6段階で判定した。

Table 11 Criteria by Japanese patch test research group

Judgement	Skin response	Score
—	No response	0
±	Slight erythema	0.5
+	Erythema	1.0
++	Erythema + Edema	2.0
+++	Erythema + Edema + Pauple, Small blister	3.0
++++	Large blister	4.0

また、チャンバー除去 30 分後およびチャンバー除去 24 時間後の皮膚反応を上記表にしたがって判定し、評点化した。2 回の判定のうち強い方の反応をとり、各治験薬について評点の総和を被験者数で除した商の百分率を皮膚刺激指数⁴⁷⁾ (stimulation index : SI) として算出した。また、各治験薬の刺激性は、SI をもとに Table 12 にしたがって評価した。

Table 12 Criteria of skin stimulation index

Judgement	SI value of dermatological drug and product
Safety	SI < 15
Allowable	15 ≤ SI < 30
Need to be improved	30 ≤ SI < 60
Dangerous	60 ≤ SI

(2) 光パッチテスト

治験薬を 24 時間貼付した後、Finn Chamber[®]を除去し、軽く清拭し、UVA を 6.0 J/cm² 照射した。UVA 照射 30 分後に治験薬貼付部位の蕁麻疹反応（光蕁麻疹）を観察した。その後、新たに空の Finn chamber[®]を Scanpor[®]テープを用いて同一部位に貼付し、24 時間遮光した。チャンバー除去 30 分後および 24 時間後に、貼付部位の皮膚反応を 48 時間密封パッチテスト部位（非照射部位）と比較し、光毒性を光毒性判定基準（Table 13）にしたがって 5 段階で判定した。

Table 13 Criteria of photo toxicity

Judgment	Skin response
—	No response or equal to or less than the part of no UVA irradiation
±	Slightly strong response compared with the part of no UVA irradiation
+	Obviously strong response compared with the part of no UVA irradiation
++	Two rank strong response compared with the part of no UVA irradiation
+++	Three rank strong response compared with the part of no UVA irradiation

2. 皮膚薬物動態学的試験（DPK 試験）

治験薬（OCT 軟膏および OCT ローション）を用いたヒト角層内薬物動態の比較検討を 12 人の健康成人で評価した⁴⁴⁾。全角層の厚み測定する目的で、右前腕内側部より 2 箇所を選び、テープストリッピングにより角層を剥離した。すなわち、剥離後のテープ質量より剥離前のテープ質量を差し引くことで剥離した角層重量より剥離した角層の厚みを算出し（角層の比重を 1 と仮定）、また同時に水分蒸散量測定装置により経皮水分蒸散量（Trans Epidermal Water Loss: TEWL）を測定した。この手順を繰り返すことにより、横軸に剥離時点までの各角層の厚みの累積値を、縦軸に $1/TEWL$ をプロットし、その回帰直線の x 切片により全角層の厚みを算出した。次に、被験者 12 名（OCT 軟膏群 6 名、OCT ローション群 6 名）の腕内側部に、OCT 軟膏または OCT ローションを約 38 mg 均一に塗布した。その後 0、2、4、6、8 および 10 時間後に製剤を除去した後、テープストリッピング（20 回、または角層の 80% が除去されるまで）により角層を剥離し、剥離前後のテープ重量より角層重量を算出した。また、テープに付着した角層中の OCT 濃度を LC-MS/MS で測定した。

3. 第 III 相臨床試験

治験薬（OCT 軟膏および OCT ローション）を用いて、尋常性乾癬患者 171 例を対象とした並行群間比較試験を実施し、OCT ローションの有効性および安全性を OCT 軟膏と比較検討した。被験部位としては、「被髪頭部」、「体幹部、上肢または下肢」の両部位から、それぞれ典型的な尋常性乾癬の皮疹部 1 箇所を被験部位として選択し、OCT 軟膏または OCT ローションを両方の被験部位に 1 日 2 回、適量を 8 週間連続単純塗擦した（OCT 軟膏；85 例および OCT ロ

ーション；86例)。有効性（有用性）に関する評価項目は、①皮膚所見項目別評価、②全般改善度、③治験薬の使用感とし、各々以下の判定基準により評価を行った。なお、③治験薬の使用感に関しての結果は、第2編、第2章に示す。

<皮膚所見項目別評価>

紅斑、浸潤・肥厚、鱗屑の各々の症状の程度を各観察日（または中止日）に5段階（4：高度、3：中等度、2：軽度、1：軽微、0：なし）で評価した。

<全般改善度>

「改善度」および「略治」により全般改善度を評価した。「改善度」は各観察日（または中止日）における両方の被験部位の皮膚所見を治験開始日と比較して5段階（+++：著明改善、++：中等度改善、+：軽度改善、±：不変、-：悪化）で評価した。また、「略治」に関しては、被験部位における皮膚所見が浸潤・肥厚・鱗屑ともに0となり、紅斑が2、1、0の場合は「略治」とし、評価を終了した。

<治験薬の使用感>

8週後（または中止日）に両方の被験部位の治験薬の使用感を被験者から調査した。治験薬の塗り易さに関しては、「とても塗り易い、塗り易い、塗り難い、とても塗り難い」の4段階で、治験薬のべとつき感に関しては、「気にならない、ほとんど気にならない、気になる、とても気になる」の4段階での聞き取りを行った。また、有効性の解析における、主要評価項目は、最終時における被髪頭部の全般改善度とし、副次評価項目は、a) 最終時における体幹部、上肢または下肢の全般改善度、b) 治験開始後の各観察日における全般改善度、c) 治験開始日と最終時の皮膚所見各項目スコアの変化量、d) 治験薬の使用感とした。

一方、安全性の評価に関しては、①自覚症状・他覚所見、②臨床検査を基に、治験期間中に被験者に生じた全ての有害事象について、重症度（1：軽度、2：中等度、3：高度）および治験薬との因果関係（1：なし、2：あり、3：不明）を判定し、治験薬との因果関係が否定できないものを副作用とした。

第2節 結果および考察

1. 有効性の評価

(1) 皮膚薬物動態学的試験 (DPK 試験)

OCT 軟膏と OCT ローションのヒト DPK 試験の結果を Figure 19 に示す。本図より、皮膚適用後に定常状態に達するまでの時間については、剤形間の違いが認められたものの、共に定常状態に達した適用後 6 時間の角層内薬物濃度は両製剤で概ね同等であることが分かった。これより、DPK 試験で規定される生物学的同等性の判定値、「差の 90% 信頼区間: $\log 0.7 - \log 1.4$ 」、が成立することが示された。

なお、今回実施した皮膚薬物動態学試験 (Dermatopharmacokinetics ; DPK 試験) は、「局所皮膚適用製剤の後発医薬品のための生物学的同等性試験ガイドライン (H15.7.7., 薬食審査発第 0707001 号)」にてその手法が詳述されている。その中で、DPK 試験にて求められている同等とは、比較する製剤間における「角層内薬物動態において、定常状態若しくはそれに近い状態での薬物濃度の同等性」である。この考え方は、外用剤の局所投与において、角層中の薬物濃度が合致すれば、角層下の皮膚 (表皮, 真皮) への薬物移行は、概ね合致することを前提としている。また、一般に、皮膚内の薬物代謝等を別にすれば、外用剤を投与後、皮膚中の薬物移行と全身循環系への薬物移行 (生体暴露) は、基本的には同一のパターン⁴⁸⁾を示すものと考えられている。加えて、局所皮膚適用製剤の剤形追加のための剤形追加のガイドラインおよび Q&A⁴⁹⁾を含め、DPK 試験では、通常薬物動態学的パラメータ [Tmax, Cmax, AUC] は求められていない。これらの背景と今回得られた結果 (Figure 19) を併せると、局所皮膚外用剤では、薬物の吸収が定常状態に至るまでの過程より、むしろ「定常状態に到達した時、あるいはそれ以後の角層内薬物濃度が合致すること」が、生物学的同等性成立のための最も重要な要因であると考えられた。

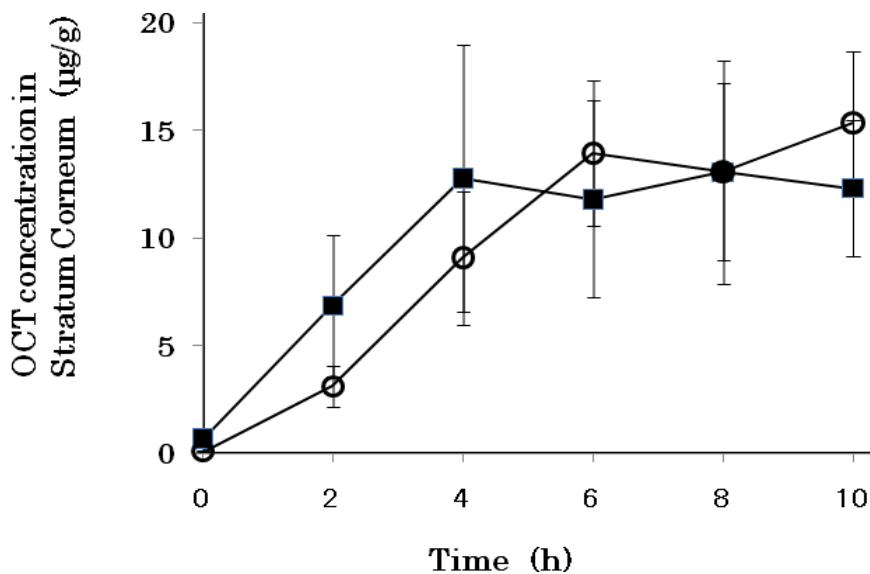


Figure 19 Time-course of OCT concentration in human stratum corneum on DPK study

■ : OCT ointment, ○ : OCT lotion

Data represent the mean ± S.E. of 6 experiments.

(2) 第 III 相臨床試験

OCT ローションの有効性については、非臨床試験（動物試験）による検討を経て、最終的に OCT 軟膏を対照とした臨床試験を通して検証した。すなわち、尋常性乾癬患者を対象とした第 III 相試験⁴⁵⁾の概括評価から、主要評価項目である最終評価時における被髪頭部の全般改善度は、[OCT ローション：95.2%，OCT 軟膏：98.8%（cf.両群の改善率の差の推定値は-3.6，両側 95%信頼区間は - 8.8-1.6）]であり、OCT ローションは、OCT 軟膏と同様に高い改善度を示した。また、副次評価項目である体幹部、上肢または下肢における全般改善度[ローション：89.2%、軟膏：96.3%（cf. 両群の改善率の差の推定値は - 7.1、両側 95%信頼区間は - 15.0-0.8）]に関しても、ほぼ OCT 軟膏と同様の成績であった。

以上、DPK 試験および第 III 相臨床試験の結果より、設計した OCT ローションは製剤コンセプト（Table 2）に掲げた「有効性の確保（OCT 軟膏との生物学的同等性）」を患者による実使用において達成できることが示された。

2. 安全性の評価

OCT ローションの安全性確保については、非臨床試験、すなわち主に動物試験による検討を経て、最終的に OCT 軟膏を対照とした臨床試験を通して検証した。その結果、健康成人における安全性評価である皮膚安全性試験⁴³⁾では、48 時間密封パッチテストにおける皮膚刺激指数は「7.4」であり、安全品と評価された。また光パッチテストにおける光蕁麻疹反応は全例で陰性であり、光毒性反応は認められなかった。これより、OCT ローションは臨床供用に際し、皮膚刺激性について充分忍容性があることが示された。また、第 III 相比較試験⁴⁵⁾での尋常性乾癬患者における安全性評価では、解析対象 171 例（OCT ローション：86 例、OCT 軟膏：85 例）のうち、OCT ローション群に 30 例（34.9%）51 件、OCT 軟膏群に 19 例（22.4%）31 件の有害事象が認められたが、重症度はいずれも「中等度」および「軽度」であった。この中で皮膚局所（全身障害および皮膚局所様態、皮膚および皮下組織障害）での有害事象は、OCT ローション群で 15 例（17.4%）22 件、OCT 軟膏群で 5 例（5.9%）6 件であり、それらの有害事象のうち、因果関係を否定できない有害事象はいずれも「軽度」であり、投与中／終了後に軽快、消失または回復したことが確認された。また、これらの有害事象の発現頻度は、既に医療施設で治療に用いられている OCT 軟膏と統計学的に有意な差がなく、いずれも OCT 軟膏の臨床試験、市販後臨床試験および市販後調査において既知の所見であることより、安全性上の新たな課題はないと推察された。

以上の臨床試験の成績から、設計した OCT ローションは製剤コンセプト（Table 2）に掲げた「安全性の確保」を患者による実使用において達成できることが示された。

第3節 小括

第1章および第2章で確認された非臨床試験（動物試験）による有効性および安全性を、実使用、すなわち臨床試験（ヒト試験）で検証するために、皮膚安全性試験、皮膚薬物動態学的試験（DPK試験）および第III相臨床試験を行った。

DPK試験に関しては、OCT軟膏とOCTローションで皮膚適用後の角層内薬物濃度の立ちあがりに違いは認められたが、適用後6時間以降で両製剤とも定常状態に達し、6時間値で比較したときの両者の角層内薬物濃度は概ね同等であることが示された。また、尋常性乾癬患者を対象とした第III相比較臨床試験の概括評価から、主要評価項目である被髪頭部の全般改善度において、OCTローションはOCT軟膏と同様に高い改善度を示し、また副次評価項目である体幹部、上肢または下肢における全般改善度に関しても、OCT軟膏とほぼ同様の成績であることが示された。

一方、臨床試験に関する安全性の評価に関しては、健康成人における安全性評価である皮膚安全性試験よりOCTローションの皮膚刺激性に問題ないことが確認された。また、尋常性乾癬患者を対象とした第III相比較臨床試験の結果より、OCTローションとOCT軟膏の有害事象に統計学的な有意差はないことが示された。

以上より、非臨床試験（動物試験）を通して設計したOCTローションの「有効性の確保」と「安全性の確保」が、最終目標である臨床試験（ヒト試験）においても実現できることが示された。また、薬物の皮膚内移行性を指標とする動物モデルを用いた*in vivo*スクリーニング（非臨床試験）は、局所皮膚外用剤の処方設計において一つの有用な評価法に成り得ることが確認できた。

第2編 品質と使用性の確保

第1編では、OCT ローションの経皮吸収性評価（生物学的評価）を中心とした製剤設計手法を示しながら、医薬品の三要素のうち「有効性の確保」と「安全性の確保」について評価した。しかしながら、短期的な有効性と安全性の確保だけでは、医薬品を上市して医療現場に届けることはできない。これに加えて、一定の使用期間、有効性と安全性を保証し得るデータの裏付け、すなわち品質の確保が重要となる。

品質の確保として押さえておくべき評価項目には、均一性、放出性、物理化学的安定性、微生物学的特性等が挙げられ、最終的にはこれらの全ての評価項目のデータが一定水準以上になることが要求される。したがって、処方検討にあたっては、まずは何が処方設計を成功させるため障壁（律速）となるかを見極めることが重要である。今回のOCT ローションの設計では、主薬であるOCTが熱、水、光に不安定な特徴があり、かつ開発剤形が水を含む乳剤性ローションであることより、主薬の安定性と乳化安定性が品質確保の大きな課題になると考えた。また本ローション剤が水を含む多回投与製剤であることから、微生物学的な特性として保存効力性を確保することも必要である。さらには、医薬品が医師や患者に継続して使用されるようになるためには「使い易さ」、すなわち「使用感」に優れることも、OCT ローションの製剤コンセプトを実現させるための要件になる。

上記の品質および使用性を確保するために、まず、O/W型の乳剤性ローション中にOCTを安定に配合させるための処方スクリーニングを行った。具体的には、油相および水相の両相における主薬安定性を向上させる設計方針の下、主薬安定性の良好な基剤成分、pH、安定化剤および乳化剤（界面活性剤）の選定を行った。乳化安定性に関しては、選定した油（MCT；中鎖脂肪酸トリグリセリド）を安定に水中に分散し得る界面活性剤のスクリーニングを行った。また、微生物学的特性を考慮し、日本薬局方⁵⁰⁾ 参考情報に示された「保存効力試験」に従い、微生物（細菌、真菌）の繁殖に対する抵抗性を指標することで保存剤の必要有無を評価し、使用時の保存効力性を確認した。さらに、使用感に対しては、ぬり易く（ベトツキがなく）、垂れ難い製剤特性を達成するために、付着性、粘度および流動性を指標とした製剤特

性の評価を行った。

本編では、実際の多くの処方検討と試験結果のうち、設計した OCT ローションの物理化学的特性、微生物学的特性および使用性に関する評価結果を示し、品質設計の要点と使用性の確保について論述する。

第 1 章 非臨床データによる品質と使用性の確保

第 1 節 実験方法

1. 実験材料

OCT は中外製薬株式会社より提供された社内規格品を用いた。OCT 軟膏は、中外製薬株式会社より販売されているものを購入し、使用した。また、基剤として用いた原料は各メーカーの製造する公定書規格品（日局 14，薬添規 2003，食添第 7 版）を用いた。その他製剤の評価試験に用いた試薬および溶媒類は、すべて市販の試薬特級または分析用を用いた。

2. OCT の安定性試験（pH の選定）

100 mL 褐色メスフラスコに OCT エタノール溶液（2500 µg/mL）1 mL およびセトマクロゴール 1000 を 0.05 g 加え、pH の異なる緩衝液（Britton-Robinson Buffer）を加えメスアップした。この液各 1 mL を 30 mL 褐色バイアル瓶に必要量充填し、60℃および 80℃設定の恒温恒湿器に保管した。保管したサンプルを各設定機器より一定期間後に取り出し、高速液体クロマトグラフ法〔λ 265 nm、YMC-Pack A-303、移動相：水／アセトニトリル／テトラヒドロフラン（10:10:1）、移動相の流速 1 mL/min、25℃〕で分析して、各サンプル中に含まれる OCT 含量を測定し、Initial 値に対する残存率（%）を評価した。

3. 保存効力試験（pH 調節剤の量による影響）

日本薬局方⁵⁰⁾の参考情報 保存効力試験法を参考に、pH 調節剤であるジイソプロパノールアミンの配合量を変えた OCT ローション剤を用いて保存効力試験を実施した。培養した菌体（*Aspergillus niger*）を、白金耳で無菌的に採取し、0.05 %ポリソルベート 80 添加滅菌生理食塩水 10 mL に浮遊させ、分散した後、ガーゼでろ過し、ろ液を菌体の浮遊液（接種菌液）とした。

製剤約 20 g にこの接種菌液を 0.1 mL 加え、均等に混合した後、これを 20～25℃で保存し、1 および 2 週間目に生菌数を以下に示す方法で測定した。所定の期間保存した菌接種および菌無接種の製剤 2 g を量り、0.05%ポリソルベート 80 添加滅菌生理食塩水 18 mL を加え希釈した (10^1 希釈)。この希釈した液 1 mL を量り、0.05%ポリソルベート 80 添加滅菌生理食塩水 9 mL を加え希釈した (10^2 希釈)。同様の操作で 10^3 もしくは 10^5 希釈までの液を調製した。希釈した各濃度の液各々 1 mL を正確に量り、ポテト・デキストロース培地 15～20 mL に加えて混和した後、20～25℃培養温度で少なくとも 5 日間培養した。培養後、集落数を計測し、以下の式により製剤中の生存菌数を算出した。

製剤中の生存菌数 (CFU/g) = 集落数の平均値 (2 桁で表示) × 希釈倍数

4. 保存効力試験 (Initial および加速 6 箇月保管品の評価)

OCT ローションの Initial 品および加速条件 6 箇月保管品を用いて、日本薬局方⁵⁰⁾の参考情報 保存効力試験法 カテゴリーIB にしたがって保存効力試験を実施し、微生物学的品質を評価した。なお、試験菌には、*Staphylococcus aureus* (S. aureus)、*Pseudomonas aeruginosa* (P. aeruginosa)、*Escherichia coli* (E. Coli)、*Candida albicans* (C. albicans)、*Asperigillus Niger* (A.niger) の 5 種を使用した。

5. 付着力測定

OCT ローションの使用性に関する物理的評価⁵¹⁾のひとつとして、レオメーター (サン科学, CR-500DX、アダプターNo.25 : 直径 20 mm) を用いた製剤の付着性 (ベトツキ) 評価法を考案した。試験装置の模式図を Figure 20 に示す。レオメーターに付属の台座上に、ポリ塩化ビニリデン膜 (サランラップ®) で覆ったスポンジをセットし、その上に製剤約 50 mg を一定面積範囲内 (約 20 cm²) に 2 分間塗布した。その後、進入速度 : 100 mm/分、進入距離 : 1 mm の条件下で試験を行い、得られた測定チャートの曲線下面積 (図中の A- : 負の面積部分) を付属の解析ソフト (CR-500DX) を用いて算出し、付着力 : F 値 (J) を求めた。

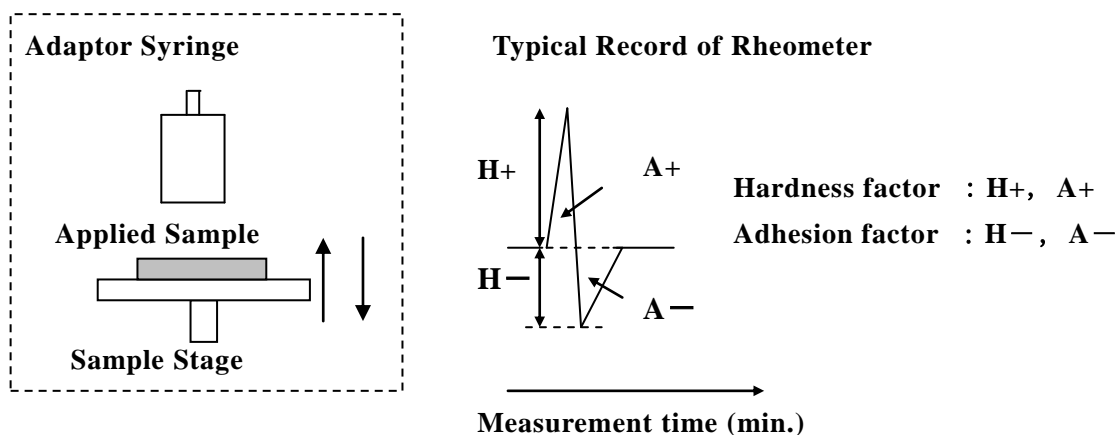


Figure 20 Schematic diagram of apparatus of measuring adhesion force

6. 粘度および流動性試験

OCT ローションの使用性に関する別の物理的評価として、製剤の粘度および流動性を評価した。粘度は、日本薬局方⁵⁰⁾の「一般試験法、粘度測定 単一円筒形回転粘度計」の項に従い、B型粘度計（トキメック B8H）を用いて測定した。すなわち、粘度計校正用標準液（標準液）および製剤を充填（13 mL）し、25°C・60%RH に 24 時間以上保管した後、少量サンプルアダプタ用ローター（HH-12）を紡錘形状部まで確実に浸し、25°Cの測定条件にて、ローターを 100 rpm で 60 秒回転させた時の B 型粘度計の示度を読み取り、つぎの（1）－（3）式により粘度（mPa・s）を算出した。

$$\text{標準液の測定粘度} = \text{標準液の測定示度} \times 25 \text{（換算乗数）} \quad \dots \quad (1)$$

$$\text{補正係数} = S^* \text{ } ^8 / \text{標準液の測定粘度} \quad \dots \quad (2)$$

$$\text{製剤の粘度} = \text{測定示度} \times 25 \times \text{補正係数} \quad \dots \quad (3)$$

* 8: 標準液の 25°Cにおける粘度（温度－動粘度・粘度計算表からの読み取り値）

流動性は、製剤を 25°C・60%RH に 24 時間以上保管した後、速やかに分注式エッペンドルフピペットを用いてサンプルを吸い上げ、仰角 45 度のスライドグラス上に 500 μL を垂直滴下させ、製剤が 50 mm 距離を移動する際に要する時間を測定した。

第2節 結果および考察

1. OCT ローションの物理化学的特性

一般に外用剤の pH は皮膚への安全性を考慮し、弱酸性 (pH 5~6) に調整されることが理想であるが、製剤中の主薬の安定性が pH に依存する場合が多い。そこで、OCT 安定性の観点から至適 pH を把握する目的で、pH の異なる Britton-Robinson 緩衝液中に OCT を 0.0025% 溶解させ、60℃および 80℃保管における OCT 安定性を評価した (Table 14)。

Table 14 OCT residual rate (%) in Britton-Robinson buffer solutions (n=3)

Buffer solution (pH)	Stability storage conditon	
	60℃ / 1week	80℃ / 1week
BRB-5 (5.2)	2.4	N.D.
BRB-6 (6.2)	57.1	1.7
BRB-7 (7.1)	91.2	52.2
BRB-8 (8.2)	98.2	83.3
BRB-9 (9.0)	99.7	92.8
BRB-10 (10.1)	99.6	95.3

その結果、Table 14 に示す通り OCT は弱酸性から中性領域では不安定であったが、緩衝液 pH の上昇に比例して OCT 残存率が高まることが分った。これより、主薬安定化には製剤 pH をできるだけ高く設定することが望ましいと判断し、製剤 pH を 10 に設定することにした。ただし、基剤が塩基性になれば刺激感、かゆみ、発疹などの副作用に繋がる場合がある。したがって、前編で示した OCT ローションの皮膚累積刺激性試験 (Table 9)、眼粘膜一次刺激性 (Table 10)、ならびに臨床試験 (第 1 編、第 3 章) を通じて、安全性・忍容性は十分に確保できることを確認した。これらより、設計した OCT ローションは、製剤 pH を 10 にすることにより、主薬の安定性と皮膚への安全性を両立する製剤であることが示された。

2. OCT ローションの微生物学的特性

OCT ローションは水を含む多回投与製剤であることから、微生物学的特徴として保存効力性を確保することが必要である。しかしながら、一般的にパラベン類を代表例とした保存剤は、加水分解による失活のため、アルカリ側で防腐効果が低下することが知られている。すなわち、OCT ローションの主薬安定性が良好な製剤 pH では保存効力性の確保が困難となる可能性がある。そこでまず、保存剤の必要性を確認する目的で、OCT ローション処方成分中の pH 調節剤であるジイソプロパノールアミンの配合量を変え、*A.niger*（黒カビ）に対する保存効力性を評価した（Table 15）。その結果、ジイソプロパノールアミンの配合量が低下するに従い、防腐力効果が下がり、パラオキシ安息香酸エステル（メチルパラベン）等の保存剤の配合が必要であることが分かった。一方、興味深いことに、ジイソプロパノールアミンの処方中濃度が 0.50～0.60%（pH9.5 付近）以上であれば菌の減少を伴う保存効力性を示すことが確認された。

Table 15 Preservative effectiveness tests with OCT lotion of various pHs

Features of OCT lotions		Survival numbers of <i>A. niger</i>	
Diisopropanolamine (%)	pH	Initial	After 14 days
1.16	10.01	1.4×10 ⁶	0
1.00	10.0		0
0.80	9.8		0
0.60	9.6		10 ³ レベル
0.50	9.4		10 ³ レベル
0.40	9.2		10 ⁵ レベル以上
0.30	8.7		10 ⁵ レベル以上
0.20	7.8		10 ⁵ レベル以上

上記の結果を受け、OCT ローションをポリプロピレン製の最終容器に充填し、Initial 品および加速条件保管品を用いて、日本薬局方⁵⁰⁾に従い規定された 5 菌種に対する保存効力試験を実施した。その結果、Table 16 および Table 17 に示すように、Initial 品および加速条件 6 箇月保管品共に 5 種の菌数値は 14–28 日後で低下し、これらの結果が、日本薬局方⁵⁰⁾ 参考情報、保

存効力試験法の判定基準 [カテゴリー I B : 非無菌の非経口剤] に基づく、細菌 (: 14 日後は接種菌数の 1%以下、28 日後は 14 日後のレベルと同等若しくはそれ以下) および真菌 (: 14 日後、28 日後共に接種菌数と同レベル若しくはそれ以下) の基準に適合することが分った。これより、設計した OCT ローションは、使用期間を通じて保存効力性を示すことが予測され、パラベン類などの保存剤添加を必要としない処方 (パラベンフリー処方) としての特性を有することが示された。

以上、OCT ローションはジイソプロパノールアミンを用いて製剤 pH を 10 に設定することにより、主薬の安定化、皮膚への安全性確保に加え、保存効力性をも満足する製剤となり得ることが示された。なお、結果は割愛するが水酸化ナトリウム等により製剤 pH をアルカリ側 (pH10) に設定した場合は、保存効力活性が示されないことより、ジイソプロパノールアミンの配合により pH をアルカリ側にすることが保存効力性に寄与していると推察された。

Table 16 Preservative effectiveness tests of OCT lotion < Initial >

Microorganism	Initial numbers	Survival numbers		
		0 day	14 days	28 days
<i>S. aureus</i>	3.9×10^5	1.9×10^5	< 10	< 10
<i>P. aeruginosa</i>	6.7×10^5	< 10	< 10	< 10
<i>E. coli</i>	2.8×10^5	6.8×10^3	< 10	< 10
<i>C. albicans</i>	5.7×10^5	3.4×10^5	< 10	< 10
<i>A. niger</i>	2.4×10^5	3.2×10^5	1.0×10^1	< 10

Table 17 Preservative effectiveness tests of OCT lotion < after 6-months storage at 40°C・75%RH >

Microorganism	Initial numbers	Survival numbers		
		0 day	14 days	28 days
<i>S. aureus</i>	4.0×10^5	2.9×10^5	< 10	< 10
<i>P. aeruginosa</i>	5.9×10^5	< 10	< 10	< 10
<i>E. coli</i>	9.0×10^5	1.3×10^5	< 10	< 10
<i>C. albicans</i>	7.3×10^5	6.2×10^5	< 10	< 10
<i>A. niger</i>	2.7×10^5	2.5×10^5	< 10	< 10

3. OCT ローションの付着力、粘度および流動性評価

製剤コンセプトの1つである優れた「使用性」、すなわち塗り易く（ベトツキがなく）、垂れ難い製剤特性を目的として、感触に配慮した処方スクリーニングを行った。すなわち、OCT軟膏が頭部・顔面適用を回避される主な理由として基剤由来のベトツキが挙げられると推測し、ローション設計においては、その原因に成る油分、水溶性高分子、乳化剤を出来るだけ低減させた処方設計を行った。感触を物理的な数値で表現する研究は、これまでも散見される^{51), 52), 53)}が、使用感との関係を客観的に成立することを報告した論文は少ない。そこで筆者は、ベトツキと垂れ易さを物性値として捉える試験法を設定し評価を行った。

ベトツキを物性値として捉える試験法に関しては、レオメーターを用いた測定方法を考案し、条件設定を行った後、付着力の低減を目的に処方中の油性成分、高分子、界面活性剤量を調節して設計したOCTローションについて、OCT軟膏を対照とした物理学的性質（ベトツキ）を評価・比較した（Figure 21）。その結果、本図に示す通り、今回設計したOCTローションの付着力 [$0.5 \times 10^{-3} \text{J}$] はOCT軟膏の付着力 [$1.6 \times 10^{-3} \text{J}$] に比較して、明らかに低いことが確認された。

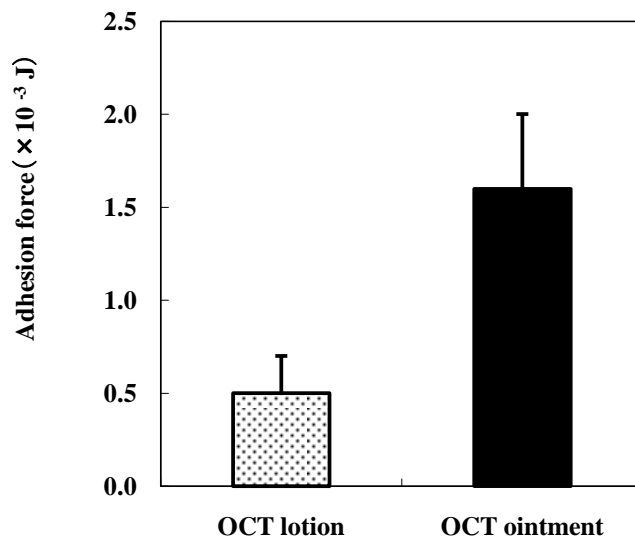


Figure 21 Adhesion force of OCT lotion measured by rheometer in comparison with OCT ointment

Data represent the mean ± S.D. of 3 experiments.

また、OCT ローションの液垂れについては、粘度によってある程度評価可能と考えられる。しかし、実際に患者が被髪頭部にローションを使用した状態を想定すると、塗布後の適用部位からの動き（液垂れ）に関しては、粘度での規定の他に、試料の移動速度、すなわち、流動性を加えた評価が有用と考えられた。Figure 22 には、製造条件（攪拌時間）を変えて調製したOCT ローションの粘度および流動性の試験結果を示す。本図に示す通り、OCT ローションの粘度と流動性の測定値に関連性を確認することができた。そこで、本方法を用いて、医療用医薬品として市販されている複数のローション（乳剤性 3 製剤, 溶液性 1 製剤; Commercial lotions) の粘度および流動性の測定を行い、Figure 22 に併記した。その結果、本図に示す通り、市販ローションの粘度はいずれも 500 mPa・s 以下であり、流動性は 15 秒/50 mm 以下であることが確認された。これらより、液垂れし難い、あるいは液垂れが許容される OCT ローションの物性値として、粘度については 1,000 mPa・s 以上、流動性については 20 秒/50 mm 以上 (Figure 22 の網掛けで示した領域) の設定が望ましいと判断された。

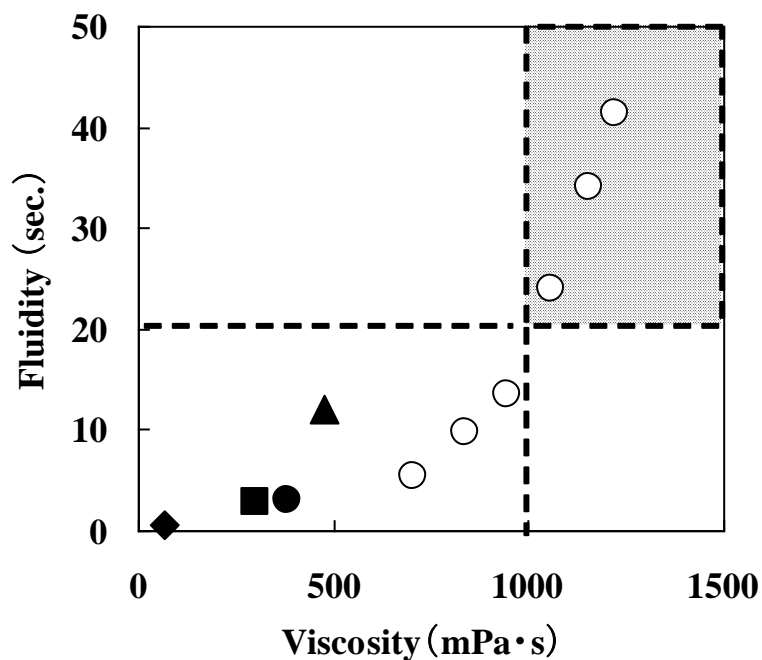


Figure 22 Relationship between viscosity and fluidity

○ : OCT lotion (prepared by various agitative conditions)

●, ▲, ■ : Commercial [O/W type] lotion (A, B and C)、◆ : Commercial [W type] lotion

Data represent the mean of three experiments.

4. OCT ローションの製剤品質の評価および安定性試験

OCT の安定性および保存効力性の確保を指標とした処方スクリーニングにより得られた OCT ローション (Table 18) を用いて、製剤の品質を特定する評価項目 (Table 19) について、試験を行った結果、40°C・75%の条件下では 6 箇月間、また、25°C・60%RH の条件下では 24 箇月間に亘って、性状、確認試験、pH、純度試験、含量の規格に逸脱はなく、初期からの明確な品質変化は認められなかった。これより、今回設計した OCT ローションは、室温で 2 年安定であることが推定された。

Table 18 Formulation of OCT lotion

Constituents	Name	Amount/1g
API * 9	OCT	25 µg
Solvent	Medium Chain Fatty Acid Triglyceride	50 mg
Emulsifier	Polyoxyethylene Glyceryl Monostearate	q.s.
Base	1,3-Butylen Glycol	200 mg
Ingredients (polymer, pH-adjuster etc.)	Carboxyvinyl Polymer Diisopropanolamine etc.	q.s.
Base	Purified Water	q.s.

* 9: Active Pharmaceutical Ingredient

Table 19 Specification and testing method of OCT lotion

Test Items	Analytical Procedures	Specification
Description	Visual inspection	White, lotion
Identification	HPLC/PDA * 10	The retention time of the OCT peaks and its spectrum in the chromatogram of the test solution corresponds to the reference standard solution.
pH	pH meter	Between 9.0 and 10.5
Purity	HPLC	Related substances A and B: not more than 0.6% Others: not more than 0.5% Total: not more than 1.0%
Assay	HPLC	Not less than 95.0% and not more than 105.0% of the labeled amount (25 µg/g).

* 10: Photodiode Array

第3節 小括

OCT ローションの「品質および使用性に確保」として、物理化学的特性、微生物学的特性、および使用性に関する検討を行った。物理化学的特性に関しては、主薬の安定性確保のために OCT ローションの製剤 pH が 10 に設定されているにも関わらず、皮膚への安全性が十分に確保された製剤であることが示された。また、微生物学的特性に関しては、pH 調節剤であるジイソプロパノールアミンを処方中に一定量（0.5～0.6%、pH9.5 付近）以上配合させると、保存剤を配合することなく特定菌の増殖を抑制する効果（保存効力性）を有することが見出された。加えて、その保存効力活性は、Initial 品のみならず、40°C・75%RH、6 箇月保存品でも保たれることが分り、多くの製品で繁用されるパラベン類等の保存剤を処方中に添加することなく、有効期間を通じて保存効力性を有することが示された。さらに使用性に関して、ぬり易く（ベトツキ）、適用時に垂れ難い製剤特性を評価した。ベトツキに関しては、製剤塗布後の付着力をレオメーターにて評価し、設計した OCT ローションの付着力が OCT 軟膏を大きく下回ることを確認した。また、垂れ難い製剤特性に関しては、製剤の粘度と試料の移動速度（流動性）との関連性を評価し、医療用医薬品として市販されている複数のローションの流動性を指標に、OCT ローションの初期品質として設定すべき粘度と流動性の範囲を設定した。

以上、これらの非臨床試験（物性評価試験）の結果より、設計した OCT ローションは製剤コンセプト（Table 2）の有効期間を通じた安定性と保存効力性が確保できること、すなわち「品質の確保」を達成できることが示された。また、ベトツキがなく、垂れ難い使用感（使用性）を有することが確認された。

第 2 章 臨床データによる使用性の確保

第 1 章での結果より、OCT ローションの非臨床データ（物性評価）により、付着性が少なく、垂れ難い製剤特性が推定されたが、実使用による使用性の良否を確認するためには、最終的には臨床試験（ヒト試験）で検証する必要がある。そこで次に、非臨床試験（物性評価試験）による結果をヒトの感触で確認・検証すべく、第 III 相臨床試験 [治験期間：2004 年 9 月－2005 年 4 月]⁴⁵⁾ を実施した。

第 1 節 試験方法

第 III 相臨床試験

第 1 編、第 3 章、第 1 節、3. 第 III 相臨床試験、「治験薬の使用感」 参照

第 2 節 結果および考察

OCT ローションの「使用性の確保」については、第 1 章で示した非臨床試験、主には物性評価試験による検討を経て、最終的に OCT 軟膏を対照とした臨床試験⁴⁵⁾ を通して検証された。Table 20 および Table 21 に、第 III 相試験にて実施された尋常性乾癬患者を対象とした治験薬の使用感についてまとめる。Table 20 に示す通り、被髪頭部では、「治験薬の塗り易さ」および「治験薬のベトツキ感」ともに、OCT ローション群が OCT 軟膏群に対して有意に使用感が良好であった ($P < 0.0001$)。一方、体幹部、上肢または下肢では、Table 21 に示す通り、「治験薬のぬり易さ」では両治験薬に有意な差は認められなかったが ($P = 0.0731$)、「治験薬のベトツキ感」では、OCT ローション群が OCT 軟膏群に対して有意に使用感が良好であった ($P < 0.0001$)。

Table 20 Results of usability in applying investigational new drug on scalp

Group	Number of patients	Ease of investigational new drug application				Wilcoxon rank sum test
		Very easy	Easy	Difficult	Very difficult	
OCT lotion	83	50 (60.2)	30 (36.1)	3 (3.6)	0 (0.0)	p < 0.0001
OCT ointment	80	12 (15.0)	29 (36.3)	26 (32.5)	13 (16.3)	

() : %

Group	Number of patients	Sticky sensation of investigational new drug				Wilcoxon rank sum test
		None	Hardly annoying	Annoying	Very annoying	
OCT lotion	83	62 (74.7)	19 (22.9)	2 (2.4)	0 (0.0)	p < 0.0001
OCT ointment	80	12 (15.0)	26 (32.5)	29 (36.3)	13 (16.3)	

() : %

Table 21 Results of usability in applying investigational new drug on trunk, upper limb and under limb

Group	Number of patients	Ease of investigational new drug application				Wilcoxon rank sum test
		Very easy	Easy	Difficult	Very difficult	
OCT lotion	83	55 (66.3)	23 (27.7)	5 (6.0)	0 (0.0)	p = 0.0731
OCT ointment	80	40 (50.0)	38 (47.5)	2 (2.5)	0 (0.0)	

() : %

Group	Number of patients	Sticky sensation of investigational new drug				Wilcoxon rank sum test
		None	Hardly annoying	Annoying	Very annoying	
OCT lotion	83	67 (80.7)	15 (18.1)	1 (1.2)	0 (0.0)	p<0.0001
OCT ointment	80	30 (37.5)	35 (43.8)	15 (18.8)	0 (0.0)	

() : %

第3節 小括

第1章で確認された OCT ローションの非臨床データ（物性評価）を、実使用、すなわち臨床試験（ヒト試験）で検証するために、第III相比較臨床試験⁴⁵⁾を行った。

臨床試験の使用感に関する成績より、OCT ローションの塗り易さおよびべトツキを指標とした使用感は、OCT 軟膏に対して有意に良好であり、特に有毛部位に症状を有する乾癬患者にとって、満足度の高い製剤であることが確認された。すなわち、今回、製剤設計した OCT ローションは製剤コンセプト（Table 2）の「使用性の確保」を達成できることが示された。また、非臨床試験での結果が概ね臨床試験（ヒトによる官能評価）で反映できたことより、今回行った付着性、粘度および流動性の物性評価法が、使用性を推測する試験として局所皮膚外用剤の処方設計において利用できると考えられた。

第3編 工業化研究による生産性の確保

第1編および第2編にて論じた OCT ローションの製剤設計によって、医薬品の三要素である有効性、安全性、ならびに品質の確保が可能となり、医薬品が上市され医療現場に届けられる前提が整った。最後に、開発製品（OCT ローション）の上市に必要な要件は「生産性の確保」、すなわち、ラボスケールで得られた製剤品質をパイロット・スケールおよび実生産スケールに反映させ、「品質の一貫性を確保すること」である。

医薬品の製剤開発においては、開発ステージが進むにつれて製剤の製造スケールが必然的に大きくなるため、製剤設計の段階から治験薬の製造⁵⁴⁾、市販品の品質確保を想定した製造方法の検討が必要になる。また、開発段階での製剤と市販製品との品質の一貫性を担保することは、臨床開発の段階で検証した有効性と安全性のプロファイルを市販品においても保証することに繋がる。それゆえ、医薬品の工業化、スケール・アップ研究は、開発段階の製剤品質を市販品に確実かつ恒常的に反映させる重要な役割を担う。

上記の背景の中、外用剤の工業化研究^{55), 56), 57), 58), 59), 60), 61), 62), 63), 64)}においては、小スケールの製造データを用いて、大きな製造単位（バッチ）の製造方法を設定していくスケール・アップ手法として、機械相似や経験則に基づく方法が適用され、近年では Quality by design のアプローチも応用されつつある。これらのプロセス設計^{56), 58), 64)}に関しては、最終的には、実生産バリデーションを通じて、生産スケールでの製造法が検証されるのが一般的である。しかしながら、最終製造法に至るまでには、スケール・エフェクト（要因）が存在することが多く⁶⁴⁾、実生産の成功手法を特定することは容易ではない。また、外用剤のスケール・アップおよび工業化研究の実例報告は、内用剤や注射剤に比べて少ないのが現状である。加えて、外用剤では、内用剤と異なる特徴的な品質、すなわち使用時あるいは塗布時の直接的な官能特性（感触）⁵²⁾もコントロールすべき重要な製剤指標となり、定量、純度試験等の通常の理化学的な品質項目のみならず、使用感に関わる粘度、流動性等のレオロジー的特性⁵⁷⁾の制御が求められる。

これらを踏まえ、本編では、OCT ローションの実生産スケールにおける製剤品質の確保を目的として、製造機械の相似性を考慮した工学理論に基づく外用剤のスケール・アップ研究を行

った。

第 1 節 実験方法

1. 実験材料

OCT ローションの製造に用いた原料の一覧を製剤処方と共に Table 22 に示す。なお、OCT は中外製薬株式会社の社内規格を、基剤として用いた各原料は公定書規格を満たしたロットを使用した。包装材料としては、ポリプロピレン容器を用いた。また、製剤の評価試験に用いた試薬および溶媒類は、すべて市販の試薬特級または分析用を使用した。

Table 22 Formulation of OCT lotion

Constituent		Excipient name	Amount/1 g
Oil Phase	API * 11	OCT	25 µg
	Solvent	Mediumchain fatty triglyceride	50 mg
	Emulsifier	Polyoxyglyceride monostearate	q.s.
	Others	Stabilizer	q.s.
Aqueous Phase1	pH-adjuster	Diisopropanolamine	q.s.
	Base	1,3-Butyleneglycol	200 mg
	Base	Purified water	q.s.
Aqueous Phase2	Polymer	Carboxylvinyl polymer	q.s.
	Base	Purified water	q.s.

* 11: Active pharmaceutical ingredient

2. 使用機械および製造方法

実験に使用した乳化機は、幾何学的に相似形の攪拌羽根を取り付けた高速攪拌ミキサーと、掻き取り用のパドルミキサーを装備した真空乳化機（アヂホモミキサー）を用いた。1.2 kg、20 kg および 200 kg の 3 種スケール（バッチサイズ）の乳化機の模式図を Figure 23 に、性能の比較一覧を Table 23 に示す。また、200 kg バッチを製造スケールとした際の基本的な製造工程のフローチャートを Figure 24 に示す。

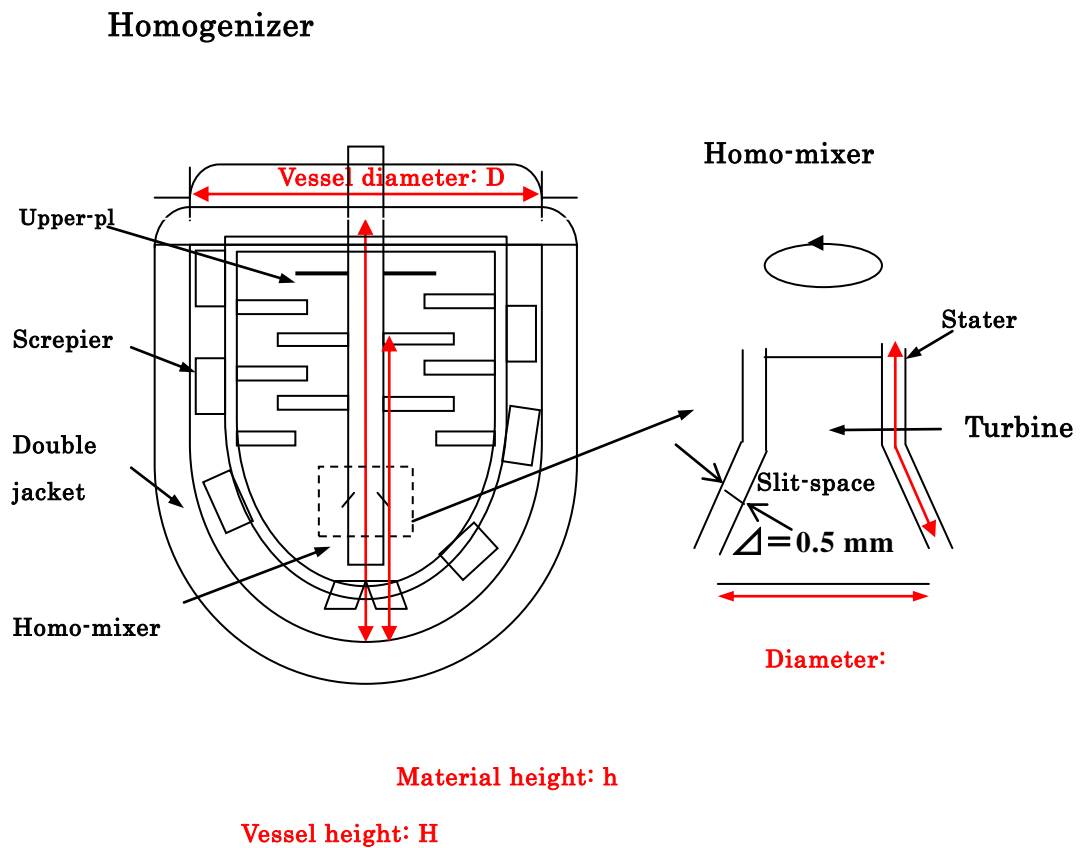
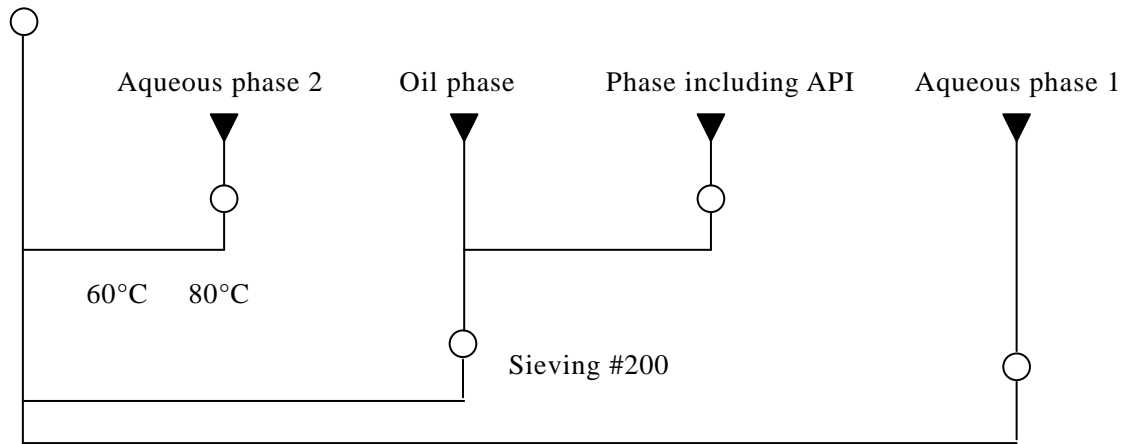


Figure 23 Schematic apparatus of emulsification homogenizer and homo-mixer

Weighing/Adding process



Emulsifying process

Homo-mixer: 2,350 rpm, Paddle mixer: 30 rpm

Temperature: 60°C, Time: 35 min

Cooling process 1

Paddle mixer: 30 rpm

Temperature: below 50°C, Time: 15 min

Removing water droplets in emulsifying container

Cooling process 2

Paddle mixer: 30 rpm

Temperature: below 50°C, Time: 30 min

Decompression: over -0.08 MPa

Discharge of OCT lotion

Sieving #80

Figure 24 Process flow chart for OCT lotion manufactured with 200 kg batch scale

Table 23 Apparatus specification of emulsifying homogenizer used

Parameter	1.2 kg scale	20 kg scale	200 kg scale
	machine	machine	machine
	AG-f	AG-O	AG-T
Volume	2 L	40 L	300 L
Diameter of container (D) * 12	0.15 m	0.40 m	0.80 m
Depth of container (H) * 12	0.20 m	0.60 m	0.92 m
Diameter of agitating wing (d) * 12	0.028 m	0.053 m	0.098 m
d/D	0.19	0.13	0.12
Batch size	1.2 kg	20 kg	200 kg
Sample depth in container (h) * 12	0.0929 m	0.2258 m	0.5037 m
Slit size	0.5 mm	0.5 mm	0.5 mm
h/D	0.619	0.565	0.630

* 12: Refer to Figure 23

3. 品質評価項目、規格および試験方法

製造方法の設計段階で目標とした5項目の製剤品質規格を Table 24 に、ならびにその5項目の試験方法を以下の a) – e) に示す。なお、e) 薬物放出性については、規格を設けず参考値扱いとして評価を行った。

Table 24 Provisional specification for quality assurance at manufacturing process development

Test items	Specification
a) Main Emulsification droplet diameter	1 – 3 μm
b) OCT content uniformity (R.S.D.)	NMT 1%
c) Emulsification stability (After stored at 50°C /4 weeks)	No separation observed
d) Viscosity	NLT 1,000 mPa · s
e) OCT release tests	Report result as reference data

a) 性状（乳化粒子）

製剤の少量をスライドガラス上にとり、カバーガラスを被せた後、光学顕微鏡（オリンパス BX50, ×400）を用いた観察を行い、主な乳化粒子および乳化粒子径（ D_{50} ）を測定した。

b) 薬物含量/均一性

製剤約 1 g を精密に量り、0.2 mol/L 硝酸マグネシウム溶液、内標準溶液およびエタノール(99.5)を加えて振り混ぜた後、さらに塩化ナトリウム溶液（1→200）を加えて振り混ぜた。これを氷冷した後、毎分 3,000 回転で 10 分間遠心分離し、ろ過した液を試料溶液とした。試料溶液、および別に調製した標準溶液の各 100 μ L につき、日局薬局方⁵⁰⁾ 液体クロマトグラフ法 (λ 265 nm, YMC-Pack AS-303) により試験を行い、内標準物質のピーク面積に対する比より、製剤中の薬物含量を求め、分散性評価値〔相対標準偏差% (R.S.D.) = (標準偏差 (S.D.) / 平均値) \times 100〕を算出した。

c) 乳化安定性

製剤約 5 g を 15 mL バイアル瓶 (SV-15) に入れ、50°C 設定の恒温器に一定時間保存後取り出し、毎分 3,000 回転で 10 分間遠心分離し、目視によりサンプルの分離状態を評価した。

d) 粘度

日局薬局方⁵⁰⁾、一般試験法、粘度測定 単一円筒形回転粘度計の項に従い、B 型粘度計（トキメック B8H）を用い、製剤の粘度を測定した（詳細は、第 2 編、第 1 章、第 1 節 実験方法の 6. 粘度および流動性試験の項を参照）。

e) 薬物放出性

Franz 型拡散セルのレシーバーセルに水/エタノール（1/1）混液を入れ、32°C に加温した水浴中にセットし、毎分 110 回転で攪拌させた。セルにサポートスクリーン、放出試験膜〔メンブランフィルター：0.45 μ m HA〕の順に乗せて固定した。製剤 0.5 g を膜上に適用し、製剤が均

一に広がることを確認した後、試験を開始した。開放状態で試験し、レセプター液面が下がった場合は、一定に保つように適宜液を補充した。開始直後、1、2 および 4 時間後にサンプリング (0.5 mL) した液について、定量法に準じ、日局薬局方⁵⁰⁾ 高速クロマトグラフ法により試験を行い、内標準物質のピーク面積に対する比より、時間毎の放出試験液中の薬物含量を求めた。

第 2 節 結果および考察

1. プロセス・バリデーションにおける重要工程の選定と製剤品質に与える工程パラメータの影響

プロセス・バリデーションでは、製剤品質に最も影響を及ぼす製造工程を把握し、当該工程における適切な操作条件の範囲を設定することになる。外用剤の製造プロセスの中では、製剤品質に影響を及ぼす重要工程として、一般的には、攪拌工程 (乳化工程)⁵⁵⁾ が挙げられている。そこでまず、乳剤性 (O/W 型) の OCT ローションにおいて、品質に影響を及ぼすパラメータを確認する目的で、1) 原料、2) 油相/水相の調製と相の添加方法・順序、3) 乳化工程、4) 冷却工程の 4 要因について、1.2 kg-batch の小スケールでの検討を行った。この際、製剤品質として、a) 乳化粒子径、b) 含量均一性、c) 乳化安定性、d) 粘度、e) 薬物放出性の 5 項目を評価した。その結果、これらの品質特性に最も影響を与えるのは、3) 乳化工程における i) ホモミクサー回転数 (攪拌翼回転数: [N])、および ii) 乳化時間 (処理時間: [T]) であることが確認された。そこでこれら 2 要因に着目し、製造条件と品質特性との関係の検討を行った。本実験において、ホモミクサー回転数; N を、高速および低速攪拌の 2 条件 (4,250 rpm、8,500 rpm) で行った。この際、パス回数、すなわち攪拌槽においてホモミクサーの攪拌翼から内容製剤 (実質的には、油相と水相を混合した直後の混合物) が所定の攪拌時間内に攪拌翼スリットを通過する回数 (後に詳述する (2) 式より算出する値) の影響も評価した。Figure 25 に、初期品質のパス回数との関係として、a) 乳化粒子径、b) 薬物含量均一性 (R.S.D.) および d) 粘度の評価結果を示す。本図より、三つの品質項目ともパス回数 25、50 および 75 pass で設計段階の品質規格を満たすことが確認された。また、乳化粒子径および薬物含量均一性に関しては 75 pass

まではパス回数の増加に従い値は低下し、75 pass 以上で平衡に達することが分かった。一方、粘度については、乳化粒子径および含量均一性と同じく、パス回数の増加に従い値は低下したが、75 pass 以上でも値の緩やかな低下傾向を示すことが確認された。また、ホモミクサー回転数；N が異なっても、粘度の推移は同様なパターンを示したが、高速攪拌条件の方がその低下傾向は大きいことが分かり、OCT ローションに配合される水溶性高分子による構造粘性が、ホモミクサーの高速攪拌により遮断され易くなることが推察された。これより、粘度の目標規格、NLT: 1,000 mPa・s を満たすには、パス回数の範囲を規定する必要があるとあり、例えば高速攪拌 (8,500 rpm) の条件下では、パス回数を 100 pass 以下に設定する必要があると考えられた。

以上より、1.2 kg-batch の小型乳化機を用いた検討による二つの知見「OCT ローションの製造では乳化工程が重要であること」、ならびに「ホモミクサー回転数とパス回数が OCT ローションの品質に影響を及ぼすこと」が示された。

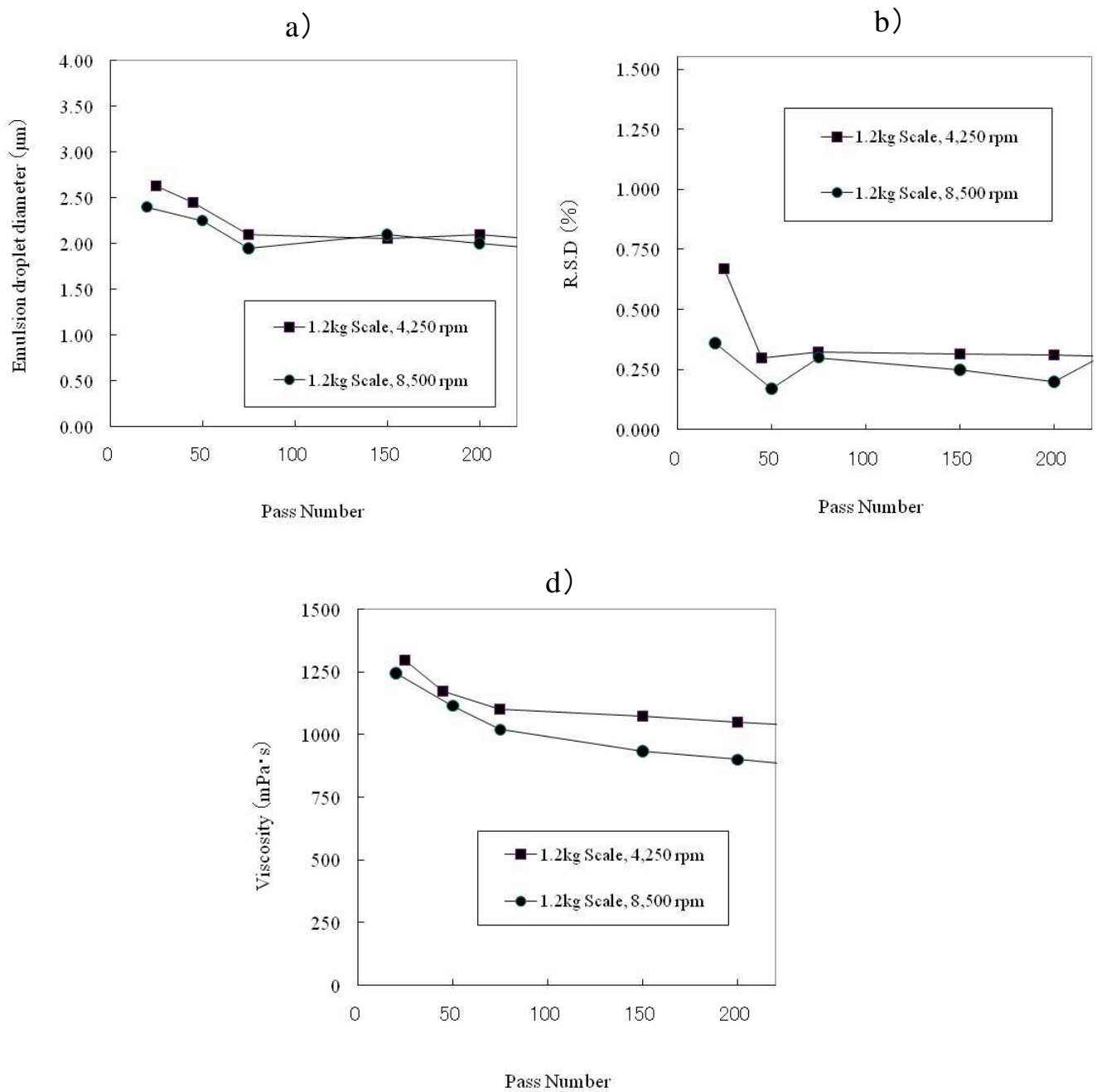


Figure 25 Relationship between pass number and quality of OCT lotion manufactured at 1.2 kg scale

- a) Emulsification droplet diameter
- b) OCT content uniformity (R.S.D.)
- c) Viscosity

2. 乳化工程の予測的バリデーション

(1) 乳化工程のスケール・アップ理論

乳化工程の各要因の影響を把握して適切にスケール・アップを行い、大スケールでの品質の一貫性を確保できる製造条件の設定のためには、スケール・アップの理論を理解する必要がある。そこで次に、本実験で行った OCT ローションの製造における 2 つのスケール・アップ手法について、それらの理論式を概説する。

a. 周速とパス回数を同一条件で行うスケール・アップ理論

乳化機は、スケールが異なっても幾何学的/構造的に相似であることを前提とする。乳化機の本ホモミクサーの攪拌効力は、主として高速回転する攪拌翼・タービンとステーターの孔部スリットを通過する際の剪断力と、間隙より吐出する製剤の循環回数により定められる。したがって、この両者を同一にすれば、理論的には、製剤に与える攪拌エネルギーを同一に設定できる。

今回、使用した各サイズの真空乳化機の本ホモミクサー/攪拌羽根の孔部スリットは、総て 0.5mm に設計されており (Figure 23)、製剤 (OCT ローション) はこの間隙より軸流方向に流動する。攪拌翼径/容器径の比 $[d/D]$ 、材料高さ/容器径の比 $[h/D]$ はほぼ近似に調整されているため、タービンの先端周速 (攪拌翼周速) ; v を等しくすることによって、局部での均質な乳化作用を行うことが可能になる。また、スリットを通過するパス回数 ; η (材料がステーターとタービンの間隙を通過する回数/単位時間当たりの平均循環回数) は、スケールが異なっても、ホモミクサー回転数 ; N (min^{-1} , 攪拌翼回転数)、および処理時間 ; T (min) を調節することで、同一条件に調整可能である。すなわち、幾何学的/構造的に相似であることを前提とした乳化機では、攪拌翼周速とパス回数を同一条件に設定することにより (v と η を同一条件に置けば)、同一品質のエマルション滴を作製することが原理的に可能である。 V および η は、各々、次の (1) 式および (2) 式で表される⁵⁸⁾。なお、 Q はタービン吐出量を表し、 $[Q = Nq \cdot N \cdot d^3 \cdot 1,000]$ である。式中の V は製造量 (L, 比重 : 1.01 L/kg 換算)、 Nq は翼吐出係数であるが、高速回転で高乱流域における使用であるため、本実験では、0.2 (機器メーカー推

奨値)を用いた。

$$v = \pi \cdot d \cdot N \quad \dots \dots \dots (1)$$

$$\eta = Q \cdot T / V \quad \dots \dots \dots (2)$$

b. 単位製剤当たりの所要動力を同一にするスケール・アップ理論

本理論においても、乳化機は、スケールが異なっても幾何学的大体及び構造的に相似であることを前提とする。乱流攪拌の場合、攪拌所要動力；P (W) はつぎの (3) 式で求められる。式中の ρ は密度 (kg/m³)、d は攪拌翼径 (m) を表す。Np は動力係数であり、ホモミクサーによる有効な攪拌処理中は完全乱流域と考えられるため、本実験では、一定値：1.02 (機器メーカー推奨値) を用いた。

$$P = Np \times (\rho \times N^3 \times d^5) \quad \dots \dots \dots (3)$$

ここで、単位容積当たりの平均攪拌所要動力；Pv (=P/V) が同等であれば、同一品質の製剤が得られることが理論的に知られている。ただし、実際には時間の項が要因として組み込まれるため、(4) 式で表される単位処理量当たりの仕事量；E (kW・h/m³) での評価が、より同一品質を確保できると考えられる。

$$E = (P/V) \times T \quad \dots \dots \dots (4)$$

本式より、製造スケール；V (機械の適正容量) が異なっても、原理的には、当該機械の設定条件である N および T を調整することで、同一の P および E を得ることができ、目標とした品質の製剤を得られる可能性が示される。

(2) 周速とパス回数を同一条件で製造した製剤の品質評価

前項で示した (1)、(2) 式を用い、1.2 kg、20 kg および 200 kg の 3 つの製造スケールにおいて、いずれも同一の周速とパス回数 [$v=12.1$ m/s、 $\eta=78$ pass] となるように、ホモミクサーの翼回転数； N と処理時間； T を調節した (Table 25)。これらの条件を用いて製造した各スケールの製剤を評価した結果を Table 26 および Figure 26 に示す。Table 26 に示す通り、a) 乳化粒子径、b) 薬物分散性および c) 乳化安定性の品質項目においては、製造スケールに関わらずほぼ同一の測定値が示され、いずれも Table 24 に示した目標とする規格内であった。一方、d) 粘度に関しては、1.2 kg スケール製造品で目標とした品質規格をやや下回る結果となったが、得られた値は目標とした 1,000 mPa・s 付近であり、20 kg および 200 kg スケール製造品では目標とした品質規格の粘度が得られた。また、Figure 26 に示す通り、参考値として評価した e) 薬物放出性に関しても、1.2 kg スケール製造品での溶出率が 20 kg および 200 kg スケール製造品に比べてやや高い値となったが、製造スケールによる溶出率の顕著な差異は認められず、製造スケールに関わらず概ね同等の薬物放出プロファイルであることが示された。

Table 25 Manufacturing conditions calculated by homogenizing parameters of emulsification process

Batch scale (kg)	Tip speed (m/s)	Rotation number of homo-mixer (min ⁻¹)	Homogenizing time (min)	Pass No. (pass)	Agitating Energy per Products (kW · hr/m ³)
1.2	12.1	8,250	2.6	78	1.7
20	12.1	4,350	12.0	78	1.7
200	12.1	2,350	35.0	78	1.7

Table 26 Physiochemical properties of OCT lotions manufactured at 1.2–200 kg scale with same tip speed and pass number

Batch scale (kg)	a) Main Emulsification droplet diameter	b) OCT content uniformity (Mean ± R.S.D. %)	c) Emulsification stability (After stored at 50°C /4 weeks)	d) Viscosity (mPa · s)
1.2	1-3 µm	102.4 ± 0.1	No separation observed	985 ± 25
20	1-3 µm	101.5 ± 0.1	No separation observed	1,186 ± 14
200	1-3 µm	100.9 ± 0.1	No separation observed	1,261 ± 45

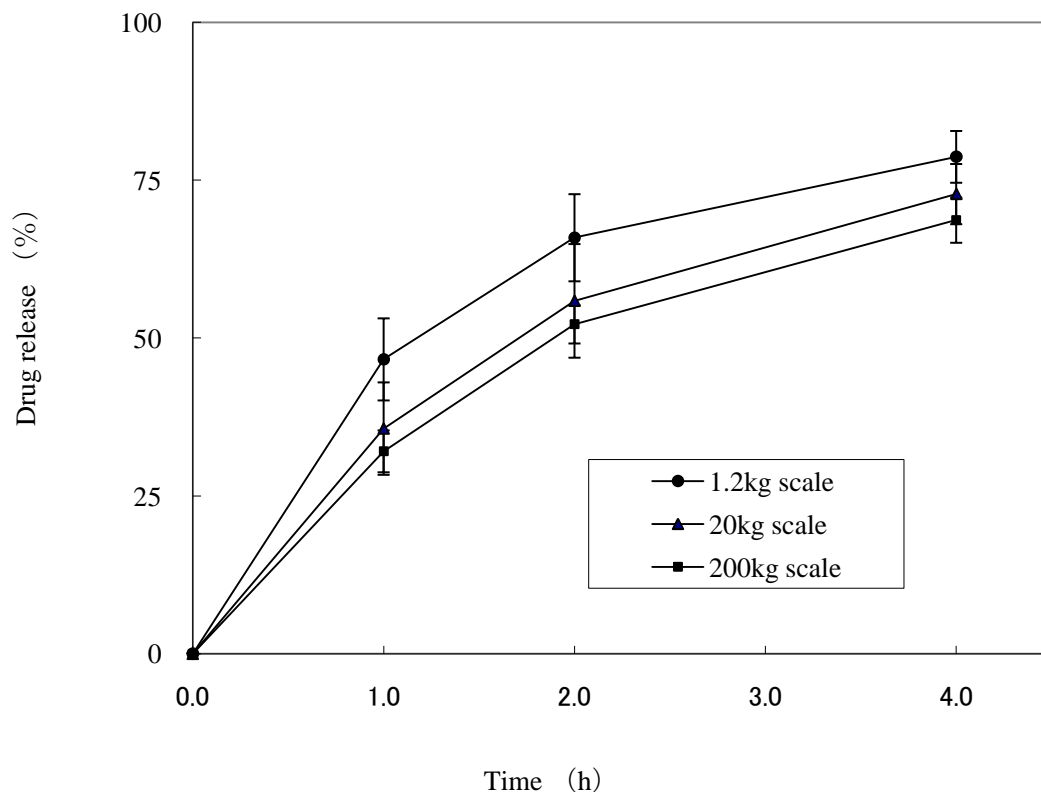


Figure 26 *In vitro* drug releasing profiles from OCT lotion ;

Based on the scale-up theory regarding tip speed, v , and pass number, η , thorough the turbine slit of the homogenizer

以上、異なる処理量、 V (バッチサイズ) の製造において、ホモミクサーの周速 ; v とパス回数 ; η を同一にする様に、理論式 ; 2. (1). a の (1) および (2) 式を用いて、翼回転数 ; N と攪拌時間 ; T の 2 条件を設定し、当該条件で、3つの異なるスケールの OCT ローションを製造した。その結果、粘度および薬物放出性に関しては処方中の水溶性高分子への剪断力の差と推察される僅かなスケール・エフェクトが認められたものの、乳化粒子径、薬物均一性および粘度の差はなく、製造スケールに関わらずほぼ同等の製剤品質が得られた。これより、スケールの大小に関わらず、攪拌羽根の周速を一定に保って、攪拌翼に均等の流れを発生させ、必要処理量を通過させれば、構内 (製造容器内) の製剤を均一に処理できることが示された。

(3) 単位処理量当たりの所要動力を同一条件で製造した製剤の品質評価

2. (1). b で示した (3) および (4) 式より、単位処理量当たりの仕事量； E (kW・hr/m³) は、次の (5) 式の様に変えられる。

$$E = (N_p \times (\rho \times N^3 \times d^5) / V) \times T = (N_p \times \rho \times (N \cdot d)^2 \times N \cdot d^3 / V) \times T$$
$$= (N_p \times \rho \times [N \cdot d]^2 \times [N \cdot d^3 \times T / V]) \dots \dots \dots (5)$$

(1) 式より、[N・d] は、攪拌翼周速； v に依存する。また、(2) 式、および [Q=Nq・N・d³・1,000] より、(5) 式における、[N・d³×T/V] は、パス回数； η に等しい。すなわち、単位処理量当たりの仕事量； E を合わせるためには、攪拌翼周速； v とパス回数； η の積を同一にする方法も考えられる。したがって、攪拌翼周速； v を余り上げない条件下で単位処理量当たりの仕事量； E を一定にすること、例えば攪拌翼回転数； N を低く設定し、処理時間； T を長くする等で、スケール・アップ時の品質の一貫性を確保する方法が取り得る。要するに、製造スケールに関わらず、v と η を同一に設定するのは、系に与えるエネルギー (E) を同一にすることに他ならず (Table 20 に併記)、この観点からアプローチするならば、v と η に関わらず、単位処理量当たりの所要動力あるいは仕事量を等しくするという手法も考えられる。また、高速攪拌機で乳剤性製剤を製造する場合、吐出圧の違いによって容器全体の攪拌 (乱流攪拌槽内) に偏りが生じる⁶⁵⁾ことが、経験的に知られている。したがって、上述の 2. (2) で示したように周速とパス回数を同一とした場合においても、粘度や薬物放出性のように、製剤特性に依存したスケール・エフェクトが余儀なく生じる場合は起こり得る。その場合には周速を下げ、攪拌時間 (パス回数) を上げることで、系のエネルギーを合わせるというスケール・アップ手法も検討可能である。今回の OCT ローションでは、周速を抑えて、単位処理量当たりの仕事量である E を同一にして行うスケール・アップ手法は用いなかったが、特に、スケール・アップ比率が大きい場合、単に周速とパス回数を合わせるスケール・アップ手法ではなく、単位体積当たりのエネルギー量を等しくする手法を取り入れることが有用である⁶⁵⁾と考えられる。

3. 実生産スケールでの検討

前項までの検討結果を踏まえ、製造条件（乳化機/装置）の調節幅と品質規格、および商用生産品における製造作業時間等⁶⁶⁾を考慮し、OCT ローションの実験スケール（200 kg-batch）における製造条件/工程管理基準を、攪拌翼回転数 $N : 2,250-2,450 ; \pm 100 \text{ rpm}$ [2,350 rpm]、攪拌時間 $T : 30-40 : \pm 5 \text{ min}$ [35 分]、パドルミキサー回転数 $N : 28-32 \text{ rpm}$ [30 rpm] に設定した（周速 $v : 12.1 \text{ m/s}$ 、パス回数 $\eta : 78.2 \text{ 回}$ 、単位処理量当たりの仕事量 $E : 1.7 \text{ kW} \cdot \text{h/m}^3$ ）。当該条件を用い、200 kg の実生産機による連続 3 lots の実生産バリデーションを実施した。Table 27 に 3 lots の主な品質試験結果を示す。本表より、適切な製剤品質の確保が出来ることが示され、OCT ローションの実生産スケールでの連続稼働に問題ないことが検証された。

Table 27 Physicochemical properties of OCT lotions manufactured at 200 kg Scale

Batch scale (kg)	a) Main Emulsification droplet diameter	b) OCT content uniformity (Mean \pm R.S.D. %)	c) Emulsification stability (After stored at 50°C /4 weeks)	d) Viscosity (mPa \cdot s)
200-1st	1-3 μm	100.6 \pm 0.4	No separation observed	1,271 \pm 7
200-2nd	1-3 μm	100.2 \pm 0.3	No separation observed	1,277 \pm 4
200-3rd	1-3 μm	100.6 \pm 0.3	No separation observed	1,309 \pm 3

第3節 小括

OCT ローションの生産化に向けて、同一の攪拌構造を有する機械サイズの異なる真空乳化機を用いたスケール・アップ研究について、製剤の物理化学的性質に影響する乳化工程（重要工程）における作業条件のプロセス・バリデーションを行った。その結果、重要工程は乳化工程であること、また、その工程の重要パラメータは、周速とパス回数の2者であり、これらはホモミクサーの回転数と攪拌時間（処理時間）の二つの作業条件で調節できることが分った。また、小スケールでの作業条件設定後に行ったスケール・アップにおいて、上記の重要パラメータを同一条件に設定する方法で製造した際、ほぼ同等の製剤品質が得られることが分かった。なお、攪拌条件を調節し、単位処理量あたりに与える所要動力、製剤に与える仕事量を同一に設定することによっても、同等の品質を有するスケール・アップ製造が可能であることが考察された。

これらより、外用剤のスケール・アップ研究では、「周速とパス回数」、あるいは「単位処理量あたりの所要動力・仕事量」を同一にする手法を用いることで、スケール間で同等の製剤品質が得られることが検証でき、本法を利用することで OCT ローションの製剤コンセプト (Table 2)、すなわち「生産性の確保」を達成できることが示された。

結語

近年、既存製品あるいは開発品のライフサイクルマネジメントへの方向転換を起点として、新薬創出に比べて高い成功確率を見込むことができる適用追加、投与経路変更、新剤形、配合剤、剤形追加、用法・用量変更、容器・施栓系の変更などの製剤開発が注目を集めている。この中でも剤形追加は、生物学的に同等な剤形の市場投入を目指すことより、さらに成功確率の高い研究対象と認識されている。皮膚科領域で多用される半固形の局所皮膚適用外用剤（外用剤）に関しても例外ではない。外用剤では、経口剤、注射剤などの他の剤形に比べて基剤の影響が大きく、剤形（formula）／剤型（type）が異なれば薬物の吸収性や有効性が大きく変化することを前提に処方設計を行う必要がある。しかしながら、既存製剤と新たに開発する剤形追加製剤の生物学的同等性が確保できる手段に関しては、基礎的および学術的研究としての報告は僅かに散見されるものの、標準化した手法に関して言及した研究はほとんどない状況である。

一方、医薬品の開発においては「有効性、安全性、品質の確保」は元より、治療アドヒアランスを向上させる観点より医療現場（医療従事者、患者）の要望を的確に反映させた「使用性の確保」も重要視される。特に、外用剤では、他の剤形（経口剤、注射剤）に比べて基剤が直接感覚器である皮膚患部に接するため、製剤の使用性に対する基剤、製剤の影響が大きい。これに加え、品質確保と、生産性の確保に取り組まなければならないが、外用剤は経口剤および注射剤に比べて研究報告・実例の少ない剤形である。したがって、個々の研究事例に応じて品質確保のアプローチや、スケール・アップ、プロセス研究を実施しなければならないのが現状である。

上記の背景より、本研究では、局所皮膚外用剤開発の極めて初期段階から、臨床試験（治験）、ならびに生産化に至るまでの全体を俯瞰し、医療現場で求められる医薬品・外用剤の開発を行う製剤設計法の実践に取り組んだ。すなわち、OCT ローションへの剤形追加を研究事例として、有効性の確保、安全性の確保、品質・使用性の確保、ならびに生産性の確保に関する手法について検討を行い、以下の結論を得た。

序章 医療現場のニーズに基づく製剤コンセプトの立案

皮膚科専門医の捉える乾癬治療に関するフィールド調査結果を踏まえ、OCT 軟膏に継ぐ剤形として、OCT を含有する水中油型（O/W 型）の乳剤性ローション（以下、OCT ローション）を選定し、その製剤コンセプトを設定した。開発品が規制当局の承認を得て市販を許可されるためには、医薬品の三要素は勿論のこと、開発製剤の治療アドヒランスを向上と開発段階と市販段階での製剤品質の一貫性を考慮する必要がある。したがって、OCT ローションの製剤コンセプトとして、「有効性」、「安全性」、「品質（安定性）」、「使用性」および「生産性」の5項目から構成される目標品質（Table 2）を明確化し、OCT ローションの製剤設計に着手した。

第1編 有効性と安全性の確保

第1章では、薬物の経皮吸収性については、基剤（溶剤）の極性による皮膚角層の極性変化の影響が大きいとの仮説を立て、OCT の経皮吸収実験および皮膚薬物動態学的解析（分配係数、拡散係数への影響）を利用した局所適用皮膚外用剤の吸収制御法に関する検討を行った。具体的には、極性の異なる溶剤を用いて調製した OCT 溶液からの経皮吸収プロファイルを評価した上で、油性基剤 MCT および水溶性基剤 1,3-BG の処方中における配合量を変動させた際の皮膚中濃度を基にして、二層拡散モデルを用いて皮膚中薬物動態パラメータ（分配係数および拡散係数）を解析した。その結果、MCT は OCT の拡散促進的な作用を、1,3-BG は OCT の分配促進的な作用を有することが示された。これらの作用は、基剤（溶剤）が角層に浸透し、薬物、基剤および皮膚の親油性と親水性のバランス（極性）が変化することに起因していると考えられた。また、本基剤特性を利用した処方成分量の最適化を行うことにより、OCT 軟膏と同等の皮膚中濃度推移および薬効が期待できる OCT ローションの設計が効果的に達成された。これらより、局所的作用を示す皮膚外用剤の設計においては、薬物と皮膚の極性（溶解度パラメータ）を介して、これらの極性と対極する二つの溶剤（基剤）を用いること、すなわち分配促進的および拡散促進的な作用を示し得る基剤（溶剤）を処方中に配合させ、それらの配合量の調整によって薬物の皮膚への親和性をコントロールすることが可能であり、皮膚中薬物量を所望する

値に制御する処方設計手法の一つになると考えられた。

第 2 章では、設計した OCT ローションの全身および局所の副作用を評価した。OCT ローションの全身的な安全性評価としては、ヘアレスマウス角層のテープストリップ処理の有無（正常皮膚 vs 損傷皮膚）による製剤塗布後の血漿中 OCT 量を OCT 軟膏と OCT ローションで比較した。その結果、正常皮膚および損傷皮膚共に、両製剤間での差はほとんどないことが分った。これにより、設計した OCT ローションを塗布した際の全身的な副作用（暴露量）は、概ね承認医薬品として市販されている OCT 軟膏と同程度であり、安全性に問題のないことが分かった。また、OCT ローションの局所的な安全性を評価する試験として、皮膚累積刺激性試験および眼粘膜一次刺激性試験を行い、OCT ローションは「弱い刺激物」、あるいは「無刺激物」に分類され、危惧すべき皮膚刺激性はないことが示された。これらより、設計した OCT ローションは、暴露量、皮膚の累積刺激性および眼粘膜の一次刺激性に問題はなく、OCT 軟膏と同等の全身および局所的な安全性を有した処方であることが非臨床試験（動物試験）により推察された。

第 3 章では、第 1 章および第 2 章で確認された非臨床試験（動物試験）による有効性および安全性の結果を、実使用、すなわち臨床試験（ヒト試験）で検証するために、皮膚安全性試験、皮膚薬物動態学的試験（DPK 試験）および第 III 相比較臨床試験を行った。その結果、有効性に関しては、DPK 試験による定常状態における角層中の OCT 濃度比較、ならびに尋常性乾癬患者を対象とした第 III 相比較臨床試験の概括評価結果により、OCT 軟膏と OCT ローションの顕著な差はないことが示された。また、安全性に関しても、皮膚安全性試験、ならびに尋常性乾癬患者を対象とした第 III 相臨床試験の結果により、OCT ローションの有害事象は OCT 軟膏と同程度で、統計的な有意差はないことが示された。これらより、設計した OCT ローションの「有効性の確保」と「安全性の確保」が、非臨床試験（動物試験）のみならず、臨床試験（ヒト試験）においても実現できることが示された。また、非臨床試験での結果を概ね臨床試験で反映できたことより、薬物の皮膚内移行性を指標とする動物モデルを用いた *in vivo* スクリーニングは、局所皮膚外用剤の処方設計において一つの有用な評価法に成り得ると考えられた。

第2編 品質と使用性の確保

第1章では、OCT ローションの物理化学的特性、微生物学的特性、ならびに使用性に関する検討を行った。物理化学的特性に関しては、製剤 pH を 10 にすることにより、主薬安定性と皮膚への安全性確保を両立することが示された。また、微生物学的特性に関しては、pH 調節剤であるジイソプロパノールアミンの処方中の配合量を一定量（0.5～0.6%、pH9.5 付近）以上にするこで、保存剤を配合することなく菌の減少を伴うことが見出され、パラベン等の保存剤なしで、有効期間を通じて保存効力性を有することが示された。さらに使用性に関しては、ぬり易く（ベトツキ）、適用時に垂れ難い製剤特性の指標として、レオメーターによる付着力測定および製剤の移動速度（流動性）と粘度との関係評価を行った。その結果、OCT ローションの付着力が OCT 軟膏を大きく下回るこ、ならびに OCT ローションの初期品質として設定すべき粘度と流動性の範囲を設定した。以上、これらの非臨床試験（物性評価試験）の結果より、設計した OCT ローションは製剤コンセプト（Table 2）に示した有効期間等の「品質の確保」を達成できることが示された。また、ベトツキがなく、垂れ難い使用感（使用性）を有することが推察された。

第2章では、第1章で確認された OCT ローションの非臨床データ（物性評価）を、実使用、すなわち臨床試験（ヒト試験）で検証するために、第III相比較臨床試験を行った。その結果、OCT ローションの塗り易さおよびベトツキを指標とした使用感は、いずれも OCT 軟膏に対して有意に良好であり、有毛部位に症状を有する乾癬患者にとって有用性の高い製剤として、OCT ローションの製剤コンセプト（Table 2）の「使用性の確保」を満たすことが示された。また、非臨床試験（物性評価試験）での結果を臨床試験（ヒトによる官能評価）で概ね反映できたことより、今回行った付着性、粘度および流動性の物性評価法が、使用性を推測する試験として局所皮膚外用剤の処方設計において利用できると考えられた。

第3編 工業化研究による生産性の確保

OCT ローション上市に最後に必要になる要件は、ラボスケールで得られた製剤品質をパイロット・スケールおよび実生産スケールに反映させることである。そこで、同一の攪拌構造を有する機械サイズの異なる真空乳化機を用いた OCT ローションのスケール・アップ研究として、製剤の物理化学的性質に影響する乳化工程（重要工程）における作業条件のプロセス・バリデーションを行った。その結果、重要工程は乳化工程であり、その工程の重要パラメータは、周速とパス回数の2者であり、これらはホモミクサーの回転数と攪拌時間（処理時間）の二つの作業条件で調節できることが分った。また、本重要パラメータを同一条件に設定する方法で製造することで、製造スケールに関わらずほぼ同等の製剤品質が得られることが示された。さらに、攪拌条件を調節し、単位処理量あたりに与える所要動力あるいは製剤に与える仕事量を同一に設定しても、目標品質の規格内であることが考察された。これらより、外用剤のスケール・アップ研究では、「周速とパス回数」、あるいは「単位処理量あたりの所要動力・仕事量」を同一にする手法を用いることで、製造スケールによらず同等の製剤品質が得られることが検証され、本法を利用することで OCT ローションの製剤コンセプト（Table 2）の開発から商用スケールまでの品質の一貫性、すなわち「生産性の確保」を達成できることが示された。

以上、本研究では、OCT ローションの製剤設計を題材として「外用剤の製剤コンセプトの設定から生産化検討までの開発過程の全般を俯瞰した製剤学の実例」、「原薬、皮膚（角層）および基剤の溶解度パラメータとその相対的位置関係を利用した半固形の局所皮膚適用外用剤の皮膚吸収制御法」、ならびに「非臨床データによる結果を実際の臨床試験（ヒト試験）で検証した実例およびアプローチ法」を論述した。これらは、外用剤の研究開発の全体を扱いながら、外用剤設計における経皮吸収制御法を示し、かつ「動物実験」での製剤設計の結果を「ヒト試験」で検証した点で、従来にない開発手法を提唱したものと考えられる。本研究で見出した成果が、半固形の皮膚局所適用外用剤の設計において有益な情報となり、ニーズの高い医薬品が効率的に開発され、医療現場に迅速に届けられる一助となることが期待される。

謝辞

本稿を終えるにあたり、本研究に際して終始懇切なご指導、ご鞭撻を賜りました城西大学薬学部薬学研究科薬粧品動態制御学講座教授 杉林堅次 先生に感謝の意を表します。

また、本研究の遂行にあたり、有益なご指導、ご鞭撻を賜りました城西大学薬学部薬学研究科薬粧品動態制御学講座准教授 藤堂浩明 先生、ならびに城西大学薬学部薬学研究科薬粧品動態制御学講座の先生各位に感謝の意を表します。

さらに、本論文作成にあたり、ご教示とご校閲を頂きました城西大学薬学部薬学研究科生体分析化学講座教授 新津 勝 先生、ならびに城西大学薬学部薬学研究科製剤学講座教授 夏目 秀 視 先生に厚く御礼申し上げます。

また、本研究の機会を与えて下さいましたマルホ株式会社 赤塚 正裕 執行役員(研究担当)、山崎 廣志 執行役員 (CMC 担当)、北川 輝幸 CMC 研究部長、辻村 欣也 製品研究グループマネージャーの各位に深く感謝申し上げます。

最後に、本研究の実質的な試験を担当されましたマルホ株式会社 京都 R&D センター 研究部、CMC 研究部および臨床開発部の全ての関係各位に厚くお礼申し上げます。

引用文献

- 1) 医薬品製造販売指針，監修 レギュラトリーサイエンス学会，じほう（2012）。
- 2) Hadgraft, J., Formulation of anti-inflammatory agents. In: Hensby C, Lowe N. J, eds. *Nonsteroidal anti-inflammatory drugs*, New York : Karger, 21-43（1989）。
- 3) Polano, M.K., Bonsel, J., Van der Meer B. J, The relation between the effect of topical irritants and the ointment bases in which they are applied to the skin, *Dermatologica*, **101**, 69（1950）。
- 4) Trotter, L., Are all acyclovir cream formulations bioequivalent?, *Int. J .Pharm.*, **304**, 63-71,（2005）。
- 5) Chan, S., Hussain, F., Lawson, L., Ormerd, A., Factors affecting adherence to treatment of psoriasis: comparing biologic therapy to other modalities, *Psychodermatology*, **24**, 64－69（2013）。
- 6) a) 原田真一，特許第 4060347 号，「22-オキサ-1 α ，25-ジヒドロキシビタミン D₃ を含有する水中油型乳剤性ローション剤」，
b) Harada, S., 特許 国際出願番号 PCT/JP2007/051502，「OIL-IN-WATER TYPE EMULSION LOTION CONTAINING 22-OXA-1 α ,25-DIHYDROXYVITAMIN D₃ AND METHOD OF TREATMENT OF SKIN DISORDER USING THE SAME」，
c) 堀沢栄次郎，原田真一，“使用感の良い” 活性型 V D₃ 含有ローションの製剤開発 — 目標品質の設定と製剤コンセプトの実現に向けて —，*薬剤学*，**68**，67-78（2008） ，
d) Harada, S., Horisawa, E., Kano, S., Sugibayashi, K., Formulation study of topically applied O/W lotion containing vitamin D₃ derivative, focusing on skin permeability of the drug, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **37**, 917-925（2011）。
- 7) 堀沢栄次郎，原田真一，半固形局所医薬外用剤のスケール・アップ研究—活性型 VD₃ 含有ローション剤の工程バリデーションを中心に—，*薬剤学*，**73**，324-332（2013）。
- 8) 中川秀己: 21 世紀の乾癬とその治療（監修：手塚 正他），*トッパンメディカルコミュニケーションズ*，106－112（2002）。
- 9) Murayama, E., Miyamoto, K., Kubodera, N., Mori, T., Matsunaga I., Synthetic studies of vitamin

- D₃ analogues. VIII. Synthesis of 22-oxavitamin D₃ analogues, *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 4410–4413 (1986) .
- 10) オキサロール[®]軟膏 25 μg/g, インタビュー・フォーラム.
- 11) Pershing, L.K., Silver, B.S., Krueger, G.G., Shah, V.P., Skelley, J.P., Feasibility of measuring the bioavailability of topical betamethasone dipropionate in commercial formulations using drug content in skin and a skin blanching assay, *Pharm. Res.*, **9**, 45-51 (1992) .
- 12) Smith, E.W., Christian, S.T.T., Tassopoulos, A., Maibach, H.I., Skin applied base ~comprehensive approach~. In: Robert, L., Bronaugh, H.I. (eds.), Topical absorption of dermatological products. *Fragrance Journal*, Tokyo (2002) .
- 13) Smith, E.W., Meyer, E., Haigh, J.M., Branching activities of betamethasone formulations, *Arzeim-Forsch/Drug Res.*, **40**, 618-621 (1990) .
- 14) Haigh, J.M., Smith, E.W., Meyer, E., Fassihi, R., Influence of the oil phase dispersion in a cream base on the in vivo release of betamethasone 17-valerate, *S.T.P. Pharma Sciences*. **2**, 259-264 (1992) .
- 15) Richard, B., Stoughton, M.D., Are generic formulations equivalent to trade name topical glucocorticoids?, *Arch. Dermatol.*, **123**, 1312-1314 (1987) .
- 16) Stoughton, R.B., Wullich, K., The same glucocorticoid in brand-name products, *Arch. Dermatol.*, **125**, 1509-1511 (1989) .
- 17) Somerma, S., The chamber vasoconstrictor assay. I. Comparison with occluded and unoccluded tests using four corticosteroids, *Clin. Exp. Dermatol.*, **5**, 195-196 (1980) .
- 18) Smith, E.W., Meyer, E., Haigh, J.M., Maibach, H.I., The human skin blanching assay for comparing topical corticosteroid availability, *J. Dermatol. Treat.*, **2**, 69-72 (1991) .
- 19) Gao, H.Y., Li Wan Po, A., Topical formulations of fluocinolone acetonide. Are creams, gels and ointments bioequivalent and does dilution affect activity?, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **46**, 71-75 (1994) .

- 20) Tsai, J.C., Chuang, S.A., Hsu, M.Y., Sheu, H.M., Distribution of salicylic acid in human stratum corneum following topical application in vivo: a comparison of six different formulations, *Int. J. Pharm.*, **188**, 145-153 (1999) .
- 21) Ostrenga, J., Haleblian, J., Poulsen, B., Ferrell, B., Mueller, N., Shastri, S., Vehicle design for a new topical steroid, fluocinonide, *J. Invest. Dermatol.*, **56**, 392-399 (1971) .
- 22) Ostrenga, J., Steinmetz, C., Poulsen, B., Significant of vehicle composition I: Relationship between topical vehicle composition, skin permeability, and clinical efficacy, *J. Pharm. Sci.*, **60**, 1175-1179 (1971) .
- 23) Ostrenga, J., Steinmetz, C., Poulsen, B., Yett, S., Significant of vehicle composition II : Prediction of optimal vehicle composition, *J. Pharm. Sci.*, **60**, 1180-1183 (1971) .
- 24) Hadgraft, J., Passive enhancement strategies in topical and transdermal drug delivery, *Int. J. Pharm.*, **184**, 1-6 (1999) .
- 25) Kumar, S., Malick, A.W., Meltzer, N.M., Mouskountakis, J.D., Behl, C.R., Studies of in vitro skin permeation and retention of a leukotriene antagonist from topical vehicles with a hairless guinea pig model, *J. Pharm. Sci.*, **81**, 631-634 (1992) .
- 26) Yamamoto, H., Application handbook of solubility parameters. Jouhoukikou, Tokyo (2007) .
- 27) Liron, Z., Cohen, S., Percutaneous absorption of alkanolic acid II : Application of regular solution theory, *J. Pharm. Sci.*, **73**, 538-542 (1984) .
- 28) Hada, N., Hasegawa, T., Takahashi, H., Ishibashi, T., Sugibayashi, K., Cultured skin loaded with tetracycline HCl and chloramphenicol as dermal delivery system: mathematical evaluation of the cultured skin containing antibiotics, *J. Control. Rel.*, **108**, 341-350 (2005) .
- 29) O'Brien, T. G., The induction of ornithine decarboxylase as an early, possibly obligatory, event in mouse skin carcinogenesis, *Cancer Res.*, **36**, 2644-2653 (1976) .
- 30) Sato, H., Sugimoto, I., Matsunaga, T., Tsuchimoto, M., Ohta, T., Uno, H., Kiyoki M., Tacalcitol (1, 24 (OH)₂ D₃, TV-02) inhibits phorbol ester-induced epidermal proliferation and cutaneous

- inflammation, and induces epidermal differentiation in mouse, *Arch. Dermatol. Res.*, **288**, 656-663 (1996) .
- 31) Gupta, A.K., Fisher, G.J., Elder, J.T., Talwar, H.S., Esmann, J., Duell, E.A., Nickoloff B.J., Voorhees, J.J., Topical cyclosporine A inhibits the phorbol ester induced hyperplastic inflammatory response but not protein kinase C activation in mouse epidermis, *J. Invest. Dermatol.*, **93**, 379-386 (1989) .
- 32) Lee, S.C., Ikai, K., Ando, Y., Imamura, S., Effects of $1\alpha, 25$ -dihydroxyvitamin D₃ on the transglutaminase activity of transformed mouse epidermal cells in culture, *J. Dermatol.*, **16**, 7-11 (1989) .
- 33) Matsunaga, T., Yamamoto, M., Mimura, H., Ohta, T., Kiyoki, M., Naruchi, T., Hosoi, J., Kuroki, T., $1,24$ (R)-dihydroxyvitamin D₃, a novel active form of vitamin D₃ with high activity for inducing epidermal differentiation but decreased hypercalcemic activity, *J. Dermatol.*, **17**, 135-142 (1990) .
- 34) Kobayashi, T., Okumura, H., Azuma, Y., Kiyoki, M., Matsumoto, K., Hashimoto, K., Yoshikawa, K., $1\alpha, 24$ R-dihydroxyvitamin D₃ has an ability comparable to that of $1\alpha, 25$ -dihydroxyvitamin D₃ to induce keratinocyte differentiation, *J. Dermatol.*, **17**, 707-709 (1990) .
- 35) Yamaguchi, K., Mitsui, T., Yamamoto, T., Shiokawa, R., Nomiya, Y., Ohishi, N., Aso, Y., Sugibayashi, K., Analysis of *in vitro* skin permeation of 22-Oxacalcitriol having a complicated metabolic pathway, *Pharm. Res.*, **23**, 680-688 (2006) .
- 36) Higuchi, T., Physical chemical analysis of percutaneous absorption process from creams and ointment, *J. Soc. Cosm. Chem.*, **11**, 85-97 (1960) .
- 37) Higuchi, T., Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices, *J. Pharm. Sci.*, **52**, 1145-1149 (1963) .
- 38) Desai, S.J., Singh, P., Simonelli, A.P., Higuchi, W.I., Investigation of factors influencing

- release of solid drug dispersion in inert matrices II, *J. Pharm. Sci.*, **55**, 1224-1229 (1966) .
- 39) Ahmet, T., Samir, M., 2003. On the origin of size-dependent tortuosity for permeation of hydrophilic solutes across the stratum corneum, *J. Control. Rel.*, **86**, 183-186 (2003) .
- 40) Draize, J.H., Dermal Toxicity. In: Appraisal of the safety of chemicals in foods, drugs and cosmetics, *The Association of Food and Drug Officials of the United States*, 46-59 (1959) .
- 41) Association Française de Normalisation. Évaluation de l' Irritation et/ou de la Corrosion Oculaires chez le Lapin. NF T 03-264 (1982) .
- 42) 医薬品添加物辞典, 医薬品添加物協会編 (2005) .
- 43) 川島 眞, マキサカルシトールローションの健康成人における皮膚安全性試験, *臨床医薬*, **23**, 669-678 (2007) .
- 44) Umemura, K., Kondo, K., Hirata, K., Amagishi, H., Ishihama, Y., Comparison of the cutaneous bioavailability of topically applied maxacalcitol ointment and lotion, *Jpn. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, **37** suppl. (2006) .
- 45) 中川秀己, 玉置邦彦, 尋常性乾癬に対するマキサカルシトールローションの有効性および安全性の検討, -マキサカルシトール軟膏との非盲検無作為割付比較試験(第 III 相臨床試験) -, *臨床皮膚科*, **61**, 771-779 (2007) .
- 46) 須甲徹郎, 接触皮膚炎とパッチテスト, *皮膚*, **19**, 210-222 (1977) .
- 47) 川村太郎, 笹川正二, 増田勉 他, 貼付試験標準化の基礎的研究, *日本皮膚科学科雑誌*, **80**, 301-314 (1970) .
- 48) Bronaugh, R., Maibach, H., 杉林堅次監訳, 化粧品・医薬品の経皮吸収, 331-336, フレグランスジャーナル社 (2005) .
- 49) 局所皮膚適用製剤の剤形追加のための生物学的同等性試験ガイドラインについて, 本文および Q&A (2006 年 11 月 24 日, 薬食審査発第 1124001 号) .
- 50) 日本薬局方第十五改正, 廣川書店 (2006) .
- 51) 飯田一郎, 西村ひろ子, 池山豊, 小柳敏栄, 化粧品のタイプ分けに関する研究-乳液の

- 物性と官能の対応化についての新知見ー, *J. Soc. Cosmet. Chem. Japan*, **23**, 295-300 (1990) .
- 52) 増山栄太郎, 小林茂雄, センソリー・エバリュエーションー官能検査試験へのいざないー, 垣内出版 (1989) .
- 53) 森田正道, 森田敬子, 片田順規, 左近健一, 鈴木一成, 化粧品用エマルジョンの官能評価とレオロジー的性質の関係, *J. Soc. Cosmet. Chem. Japan*, **24**, 91-97 (1990) .
- 54) 治験薬の製造管理, 品質管理等に関する基準 (治験薬 GMP), 薬食発第 0709004 号 (2008) .
- 55) Van Buskirk, G.A., Shah, V.P., Adair, D., Arbit, H.M., Dighe, S.V., Fawzi, M., Feldmen, T., Flynn, G.L., Gonzalez, M.A., Gray, V.A., Workshop III Report: Scaleup of Liquid and Semisolid Disperse Systems, *PDA J. Pharm. Sci. Techno.*, **49**, 145-149 (1995) .
- 56) FDA Guidance for Industry, Process Validation: General Principles and Practices, *Current Good Manufacturing Practices*, Revision 1 (2011) .
- 57) Bean, H., Beckett, A., Carless, J., (Ed) , *Advances in PHARMACEUTICAL SCIENCES*, **1** (Rheology) , 1-85 (1964) .
- 58) 飯島 明, 乳化・分散の理論と実際 実用編, 特殊機化工業株式会社, 9-73 (1997) .
- 59) Saitoh, I., Takagishi, Y., Effect of temperature on bleeding and drug release from a liquid droplet dispersion ointment, *Bio. Pharm. Bull.*, **18**, 326-329 (1995) .
- 60) Williams, S. O., Long, S., Allen, J., Wells, M.L., Scale-up of an oil/water cream containing 40% diethylene glycol monoethyl ether, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **26**, 71-77 (2000) .
- 61) Baby, A.R., Santoro, D.M., Velasco, M.V.R., Serra, C.H.R., Emulsified system based on glyceryl monostearate and potassium cetyl phosphate: Scale-up and characterization of physical properties, *Int. J. Pharm.*, **361**, 99-103 (2008) .
- 62) Klein, G.F., A new approach to the scale-up of lipid pharmaceuticals, *Pharm. Technol.*, **23**, 136-114 (1999) .
- 63) Chao, A.Y., Forbes, F.S.J., Johnson, R.F., Prospective process validation, *Drug Pharm.Sci.*, **57**, 227-248 (1995) .

- 64) 佐藤一省, 攪拌操作に関するスケール・アップの諸問題, *ケミカル・エンジニアリング*,
7, 27-31 (1979) .
- 65) 高木和行, 乳化技術と化粧品製造装置 Part II, *COSME TECH JAPAN*, 2, 898 - 908 (2012) .
- 66) FDA Guidance for Industry, Nonsterile Semisolid Dosage Forms, Scale-Up and Postapproval
Changes : *Chemistry, Manufacturing, and Controls* (1997) .