

分光学的手法を用いた外用剤の製剤学的評価に関する研究

Pharmaceutical Evaluation of External Preparation

Using Spectroscopic Technique

平成 27 年度入学

東 初樹 (Azuma, Motoshige)

指導教員

深水 啓朗

目次

序論	2
本論	4
第 1 章 ケトプロフェン含有テープ製剤における主薬の分子状態に 関する検討	4
1. 1. 緒言	4
1. 2. 実験方法	6
1. 3. 結果・考察	10
1. 4. 結論	21
第 2 章 褥瘡治療に用いられる半固形製剤の水分含量の測定および 水分吸収特性の評価	22
2. 1. 緒言	22
2. 2. 実験方法	25
2. 3. 結果・考察	29
2. 4. 結論	60
総括	61
謝辞	63
参考文献	65
論文目録	77

序論

ラマン光や近赤外（NIR）光を利用した分光学的手法による物質の分析は，測定試料へ影響を与えない波長の光を用いるために非破壊的あるいは測定試料の特別な下処理が軽微といった利点を有している．また，特別な試薬や溶媒を用いないため，グリーンケミストリーとして，環境保全の観点からも推進が期待されている技術である¹⁻³⁾．アメリカでは60年ほど前からすでに食品業界で用いられており⁴⁾，果実や豆の品質評価^{5, 6)}や糖度の推定⁷⁾，あるいは食品の味や食感の間接的な測定^{8, 9)}に利用されている．

1971年，ケモメトリクスという言葉が誕生¹⁰⁾し，分析における数学的な処理技術の発展¹¹⁻¹³⁾によって，高速かつ高精度で多成分の分析が可能となったため，医薬品業界でも30年ほど前から分光学の技術が導入^{14, 15)}されている．実際の応用例として，医薬品原料の確認試験への使用¹⁶⁾や，偽造医薬品の判別等¹⁷⁻¹⁹⁾に应用されている．しかしながら，製剤化された医薬品，特にテープ剤あるいは軟膏・クリーム剤等の外用製剤に関しては，応用があまり進んでいないのが現状である．これらの外用製剤において，テープ剤では粘性や弾性等のレオロジー特性が貼付した際の使用感に影響し，軟膏・クリーム剤では吸水能や水への溶解性が皮膚環境のコントロールや洗浄のしやすさ等に影響すると考えられる．そのため，それらの物性を評価できるツールやデータは，オーダーメイド医療を実践していくうえで，重要な情報になりうると考えられる．

そこで本研究では市販されている外用製剤に対して，ラマン分光

および NIR 分光を利用した分光学的な分析を適用し，その有用性について評価した．第 1 章では，ケトプロフェンを主薬とするテープ剤のなかから先発薬 1 製品と後発薬 2 製品を対象に，ラマン分光をはじめ種々の測定により多角的に主薬の分子状態を比較検討した．第 2 章では，近赤外（NIR）分光法を用いて，褥瘡に用いられる軟膏剤およびクリーム剤に含まれる水分に関する検討を実施した．軟膏剤あるいはクリーム剤の水分含有量や水分の吸収速度，吸水特性等を調べることにより，臨床の場における薬剤選択のエビデンスを構築する基礎になると期待できる．

本論

第 1 章 ケトプロフェン含有テープ製剤における主薬の分子状態に関する検討

1. 1. 緒言

ケトプロフェンは非ステロイド性抗炎症薬（NSAIDs）である．経口の製剤^{20, 21)}だけでなく，皮膚貼付剤^{22, 23)}やクリーム剤²⁴⁾およびゲル剤^{25, 26)}などの局所製剤が，慢性関節リウマチ²⁷⁾や筋骨格痛に関連する痛み²⁸⁾の治療に使用されている．一般的に経口と比較して，NSAIDs の局所製剤は，有害な胃腸作用および肝初回通過効果の回避を含む多くの利点を有する．ケトプロフェンは，その優れた皮膚透過性^{29, 30)}や，局所適応された場合の血漿中濃度が経口投与よりも低濃度³¹⁾であることから，局所製剤の原薬（API）として使用される．NSAIDs の皮膚貼付剤は投与の簡便性や容易な自己管理の利点を有するため，一般的に局所投与に使用される³²⁾．

局所ケトプロフェン製剤は，親水性ポリマーおよび不織布からなるパップタイプの製剤と，疎水性ポリマーおよびポリエチレンテレフタレートの繊維を含むテープタイプの 2 つの製剤カテゴリーに分類される³³⁾．以前は，水分の蒸発による有益な冷却効果や優れた薬物放出特性のためにパップタイプのパッチ製剤が主に使用されていたが³⁴⁾，剥がれやすいという欠点があった．現在の貼付剤は，原薬および添加物の溶解性ならびに皮膚接着特性に優れたアクリル酸ポリマーが一般的に使用されている³⁵⁾．

現在日本では、先発医薬品（以下、先発品と略す）と後発医薬品（以下、後発品と略す）を含む 11 種類のケトプロフェン含有貼付剤が販売され、2013 年に 1400 億円を超える市場となっている。CRECON Research & Consulting のデータによると、2006 年から 2014 年における先発品の市場シェアは約 40 %である。ケトプロフェン貼付剤の後発品が浸透しない理由のひとつとして、使用感の違いが提唱されている³⁶⁾。また、先発品と後発品との間における薬学的な特性の違いも報告されている³⁷⁾。大谷らは、ラットまたはヒトの皮膚において、先発品と後発品との比較で皮膚透過性に有意な差があることを報告している³⁸⁾。これに基づき、ケトプロフェンの分子状態や、ケトプロフェンと製剤中の他の成分との相互作用によって、製剤間の相違が引き起こされると仮定した。そこで本研究では、これらの違いに関連するケトプロフェン貼付剤の薬学的特性について、偏光顕微鏡分析、X 線回折測定およびラマン分光法を用いて評価を行った。また、ケトプロフェンの放出特性を、溶出試験および皮膚透過試験によって評価した。

1. 2. 実験方法

1. 2. 1. 材料

先発品としてモーラステープ 20 mg (マトリックス層中 1.0 g にケトプロフェン 20 mg 含有, 大きさ ; 70×100 mm, 厚さ ; 473.7±9.3 mm, 久光製薬株式会社), 後発品としてケトプロフェンテープ 20 mg 「パテル」 (マトリックス層中 1.0 g にケトプロフェン 20 mg 含有, 大きさ ; 70×100 mm, 厚さ ; 444.3±7.0 mm, 杏林製薬株式会社, 後発品 A) およびケトプロフェンテープ 20 mg 「テイコク」 (マトリックス層中 0.7 g にケトプロフェン 20 mg 含有, 大きさ ; 70×100 mm, 厚さ 405.0±2.6 mm, 帝國製薬株式会社, 後発品 B) を使用した. それぞれの製剤に含まれる添加剤を Table 1 に示す³⁹⁾. その他の試薬はすべて市販の特級品を用いた.

Table 1 Pharmaceutical Ingredients Included in Dermal Patches

Pharmaceutical ingredients	Original	Generic A	Generic B
Hydrogenated rosin glycerol ester	○	—	—
Styrene-isoprene-styrene-block copolymer	○	—	○
Polyisobutylene	○	—	—
Alicyclic hydrocarbon resin	—	○	○
Polybutene	—	—	○
L-Menthol	○	○	○
Liquid paraffin	○	○	○
4- <i>tert</i> -Butyl-4-methoxydibenzoylmethane	○	—	—
Butylated hydroxytoluene (BHT)	○	—	○
Crotamiton	—	—	○
Isopropyl myristate	—	○	—
Other ingredients	5	2	—

1. 2. 2. 偏光顕微鏡による観察

テープ剤のマトリックス層中は、温度制御ステージ(Linkam, UK)を備えた偏光顕微鏡 (Nikon ECLIPSE E600W POL)を用いて観察した。

1. 2. 3. 粉末 X 線回折 (PXRD)

PXRD 測定は X' Pert PRO MPD (PANalytical, JAPAN)を使用し、Cu-K α 線 ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$)を用いた。テープ剤をゴニオメーター上に固定し、回折角を 5° から 35° の範囲とし、電圧は 45 kV、電流は 40 mA で測定した。

1. 2. 4. 顕微ラマン分光による解析

顕微ラマン測定は、Workstation (Kaiser Optical System Inc., MI, USA) を用いて以下の条件で行った。励起レーザー波長：785 nm、測定可能波数領域：200～2400 cm^{-1} 、露光時間：1 秒、積算回数：1 回、スペクトル分解能：4 cm^{-1} 、スポットサイズ：5 ミクロン。

1. 2. 5. *In vitro* 溶出試験

テープ剤の溶出試験は、JP17 <6.13>皮膚に適用する製剤の放出試験法のパドルオーバーディスク法に準拠し行った。装置は JP17 <6.10>溶出試験法に収載されているパドル法の装置を用い、試料を容器の底に沈めるためのディスクは、JP17 <6.13>皮膚に適用する製剤の放出試験法に収載されているステンレス製のディスクを用いた。試験温度は 32 °C、溶出液にはリン酸緩衝生理食塩水 (PBS)

を用いた。PBS の組成は 138 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 1.43 mM KH₂PO₄ および 8.57 mM Na₂HPO₄ であり，pH は 7.4 である。それぞれのテープ剤を 4.15 cm² に打ち出し，ディスク（Transdermal SandwichTM by Hanson Research）に接着した後，900 mL の PBS に浸した。パドルの回転速度は 50 rpm とした。0.5，1，2，4 および 24 時間ごとに試料の溶出試験液 5 mL をサンプリングし，それぞれのサンプリング直後に同量の PBS を溶出試験液に加えることで，試験溶液量は 900 mL を維持した。

1. 2. 6. *In vitro* 皮膚透過性試験

皮膚透過性試験は，マイクロエETTEプラス[®]（自動経皮吸収システム，Hanson Research Co., CA, USA）を使用し，温度 32°C で実験を行った。ドナー相には，透過膜として，切除されたヘアレスマウスの背部皮膚（Laboskin[®], HOS: HR-1 Male, 7 weeks, 株式会社 星野試験動物飼育所，茨城，日本）を使用した。透過膜上に，直径 12 mm の円形（面積 1.1 cm²）に切り抜いた試験製剤を，一定の圧力(500 g)で 10 秒間貼付した⁴⁰⁻⁴²⁾。レシーバー相には PBS 7.0 mL を入れ，600 rpm で攪拌した。透過試験開始後から 24 時間まで，2 時間おきにレシーバー相から 1.0 mL を採取し，遠心分離(20°C, 10,000 rpm, 9,000 G, 10 分)を行った。その後，孔径 0.45 μm のフィルターでろ過したものを試料溶液とし，HPLC-UV 法(261nm)でケトプロフェンの濃度を測定した。ここで，それぞれのサンプリング後には，PBS を 1 mL 追加し，試験溶液を等量とした。

1. 2. 7. テープ剤中のケトプロフェンの抽出

皮膚透過試験前後のテープ剤からのケトプロフェンの抽出には、アセトニトリル/メタノール 80/20 (v/v) 溶液を用いた¹⁷⁾。抽出したケトプロフェンの濃度は HPLC を用い測定した。

1. 2. 8. HPLC を用いたケトプロフェンの定量

ケトプロフェンの定量には、C18 analytical column (Cosmosil 5C18-Ar-II, Nakalai Tesque, Japan)を実装した HPLC を用いた。移動相には 0.01 M phosphate buffer (pH 2.2)/acetonitrile = 60/40 (v/v)を用い、流量は 1.2 mL/min とし、温度は 40℃を維持した。溶離液は 261 nm の UV 検出器でモニタリングした⁴³⁾。

1. 2. 9. 統計解析

製剤間におけるケトプロフェンの透過性パラメータの統計学的有意差の算出には Tukey-kramer 法を用いた。

1. 3. 結果・考察

1. 3. 1. テープ剤中の結晶成分の評価

先発品と後発品 2 種類のマトリックス層中におけるケトプロフェンの分子状態を偏光顕微鏡で観察した。Fig. 1a は室温におけるテープ剤のマトリックス層中における偏光顕微鏡によるイメージを示している。先発製品ではテープ支持体の繊維組織のみが観察された。対照的に、後発品 A の繊維組織の間に観察される複屈折は、結晶成分の存在を示している。結晶成分は後発品 B でも認められたが、全視野では観察されなかった。仮に、観察された結晶成分がケトプロフェンであるならば、ケトプロフェンの融点である 94 ~ 97 °C 付近で融解するはずである。そこで、ステージの温度を 80-94°C で制御し、偏光顕微鏡による観察を行った (Fig. 1b)。先発品では、100 °C まで温度を上昇させても変化は観察されなかった。一方、後発品 A および B では、90 °C 以下では結晶成分が観察されたものの、90 °C 以上では結晶成分は消失した。結晶成分の消失した温度がケトプロフェンの融点と合致したことから、観察された複屈折はケトプロフェン結晶の存在に起因するものと推察された。

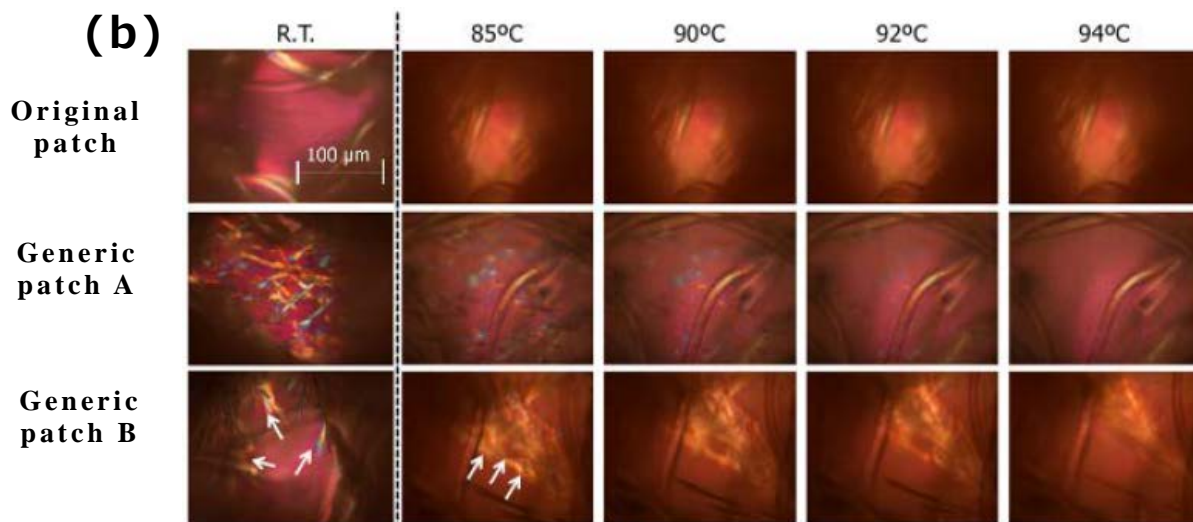
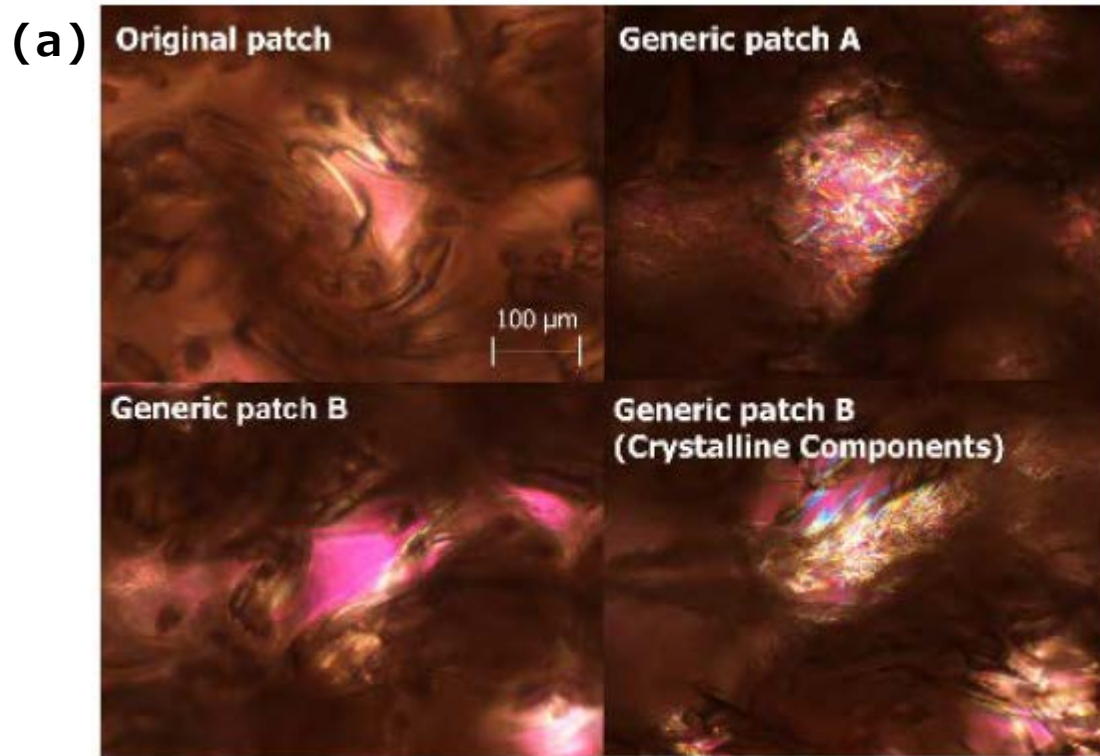


Fig. 1 (a) Polarized light micrographs of the matrix layer site in the original patch, generic patch A and generic patch B and (b) comparisons of light micrographs at room temperature (RT) and different temperature conditions. White arrows show crystalline components. The observation views were different between RT and temperature controlling condition.

テープ剤で観察されたこの結晶成分を詳細に評価するために、ラマン分光分析と PXRD 測定を行った。テープ剤中のそれぞれの成分のラマンスペクトルと PXRD パターンを Fig. 2 および Fig. 3 に示す。

Fig. 2 より、ケトプロフェン原薬のラマンスペクトルは、芳香環に起因する 1597 cm^{-1} と、 $\text{C}=\text{O}$ の伸縮振動に起因する 1652 cm^{-1} に特徴的なピークを示す⁴⁴⁾。ケトプロフェンに起因するこれらのピークは、先発品のスペクトルでは観察されなかった (Fig. 2b)。一方、後発品 A および B のマトリックス層中の結晶成分のラマンスペクトル上では、 1600 cm^{-1} にショルダーピーク (Fig. 2c and e) が観察され、また、 1654 cm^{-1} (Fig. 2c) もしくは 1658 cm^{-1} (Fig. 2e) にもショルダーピークが観察された。テープ剤中で複屈折が観察されなかった場所では、これらのショルダーピークは観察されなかった (Fig. 2d and f)。テープ剤の繊維のラマンスペクトルは、 1613 cm^{-1} および 1724 cm^{-1} にピークを示す (Fig. 2a)。Liu らは、テープ剤の添加物との相互作用の影響で、テープ剤中の原薬のフーリエ変換赤外分光 (FTIR) スペクトルのピークのシフトが認められたと報告している⁴⁵⁾。特に、ケトプロフェンの COOH 基は、感圧接着剤の OH 基と水素結合を形成することが明らかとなっており、ケトプロフェンの $\text{C}=\text{O}$ 基のピーク極大値のシフトとして観察された⁴⁶⁾。そしてこの所見は、今回の報告において後発品 2 製剤に観察されており、 1652 cm^{-1} (Fig. 2g) から、 1654 cm^{-1} (Fig. 2c) や 1658 cm^{-1} (Fig. 2e) へのピークシフトと一致した。

PXRD パターンの結果は、ラマンスペクトルのデータからの知見

とある程度一致した．後発品 A の PXRD パターン(**Fig. 3**)は，ケトプロフェンに起因する特徴的な回折ピーク(14.5, 18.5 および 23.0°)を示した．しかしながら，これらの回折は，先発品あるいは後発品 B では観察されなかった．

ラマン分光および PXRD の結果から，後発品 2 製剤において偏光顕微鏡により観察された複屈折は，ケトプロフェンの結晶に由来すると結論付けられた．後発品 B では，ラマンスペクトルで結晶性のピークが検出されたものの，PXRD の結果からはケトプロフェン結晶の存在を示唆する根拠は乏しかった．その理由は，ケトプロフェンの検出に関して，PXRD 測定と比較してラマン測定は顕微モードで測定できるために感度に優れることが推察された．さらに，偏光顕微鏡による分析では，後発品 B の結晶化の度合いが後発品 A より低いことを示した．この結果は，後発品 B でケトプロフェンの PXRD パターンが観察されなかった事実と一致する．後発品 A でよりケトプロフェンの結晶化が観察されたことに対して，後発品 B において C=O 伸縮バンドのシフトがより大きかったことも重要である．つまり，テープ剤の基剤や添加物と原薬が強い相互作用を示し，後発品 A と比較して，後発品 B の結晶化度が低いことを示しているとも考えられた．これらの結果より各製剤における原薬の分子状態の違いが製剤のパフォーマンスに影響を与えることが予測された．

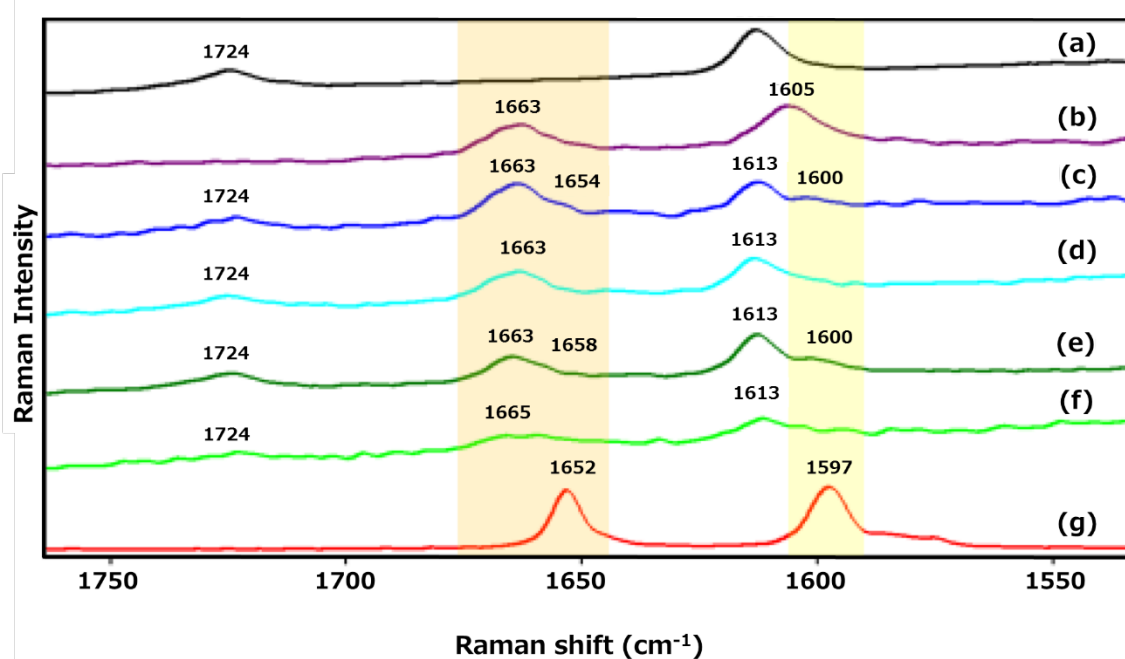


Fig. 2 Raman spectra of (a) a patch fiber, (b) the matrix layer in the original patch, (c) crystalline components in the matrix layer in generic patch A, (d) the matrix layer in generic patch A, (e) crystalline components in the matrix layer in generic patch B, (f) the matrix layer in generic patch B, and (g) crystalline ketoprofen raw material. A baseline correction has been applied to all of the spectra shown.

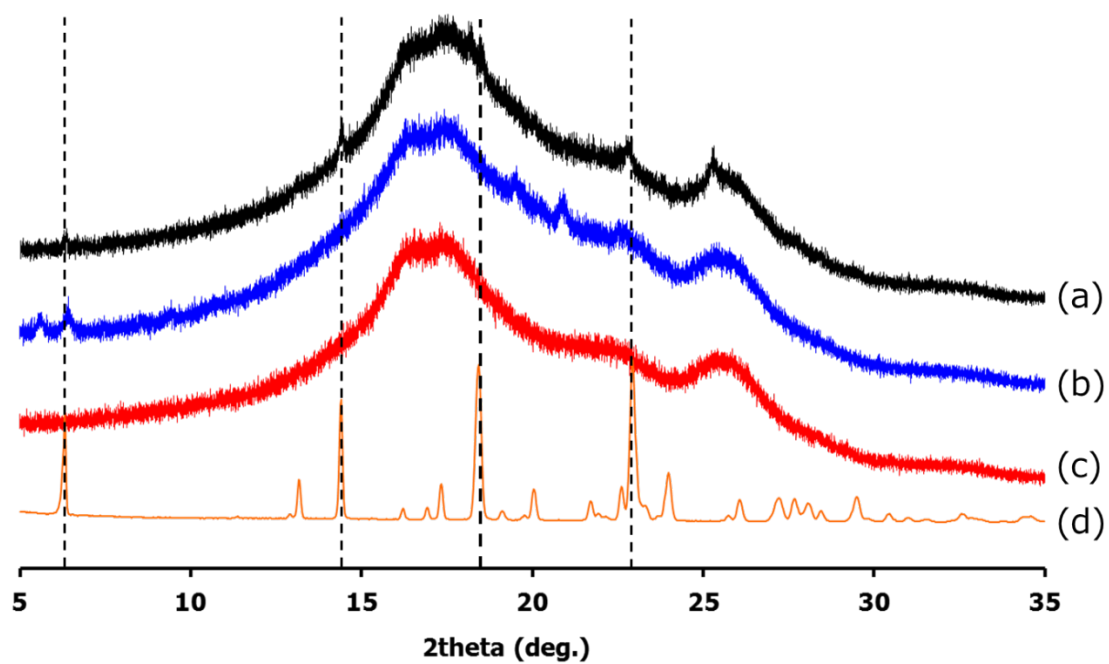


Fig. 3 Powder X-ray diffraction (PXRD) patterns for each of the patches. (a) Generic A, (b) Original Patch, (c) Generic B, (d) Ketoprofen

1.3.2. 薬物放出性試験

上述の検討では、先発品と後発品で、製剤中に含まれるケトプロフェンの分子状態や、マトリックス層中でのケトプロフェンと製剤の基剤や添加物との相互作用に違いがあることが示唆された。そこで、テープ剤からのケトプロフェンの溶出において、これらの違いの影響を検討した。Fig. 4は、それぞれのテープ剤からのケトプロフェンの溶出プロファイルを示す。これらのテープ剤には、 4.15 cm^2 あたりに 1.19 mg のケトプロフェンを含有する。4時間後の溶出量では先発品が最も多く、次いで後発品B、後発品Aの順で溶出量が多かった。しかしながら、全体の溶出量に関しては、3製剤で有意な差は認められなかった。

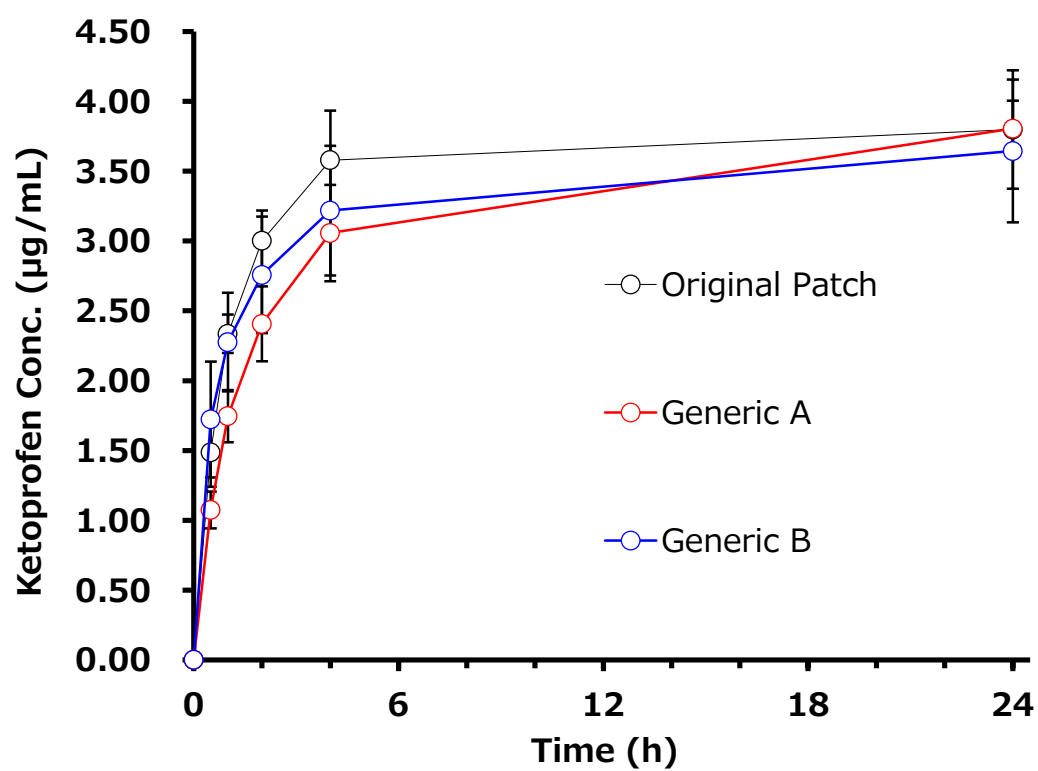


Fig. 4 Dissolution profiles of ketoprofen from each of the patches. Error bars represent the calculated standard deviations ($n = 3$)

Table 2とFig. 5は，それぞれの製剤からのケトプロフェンの皮膚透過パラメータおよび皮膚透過プロファイルを示す．すべての製剤において， 1.1 cm^2 あたりに 0.31 mg のケトプロフェンを含有する．透過速度は，皮膚透過プロファイルの直線部の傾きから求めた．先発品の透過速度は $14.6 \pm 2.8\text{ }\mu\text{g/cm}^2/\text{h}$ であったのに対して，後発品A，Bはそれぞれ $6.2 \pm 1.5\text{ }\mu\text{g/cm}^2/\text{h}$ および $7.7 \pm 2.6\text{ }\mu\text{g/cm}^2/\text{h}$ であり，先発品と後発品との間で有意な差が認められた．24時間後の先発品，後発品AおよびBのケトプロフェンの累積皮膚透過量はそれぞれ， $132.0 \pm 11.3\text{ }\mu\text{g/cm}^2$ ， $114.9 \pm 16.8\text{ }\mu\text{g/cm}^2$ および $97.8 \pm 11.9\text{ }\mu\text{g/cm}^2$ であった．これらのデータは，それぞれのテープ剤で観察されたおおまかな結晶化度と相関する．3製剤間の皮膚透過性における差異は，ケトプロフェンと，医薬品添加物およびマトリックス層で 사용되는基剤との相互作用だけではなく，主薬の分子状態の違いに起因するものと結論付けられた⁴⁶⁾．本試験では，先発品，後発品AおよびBにおいて，各テープ剤中のケトプロフェンの残存量はそれぞれ，10.0，19.5および23.4%であった．井上らは結晶性のケトプロフェンと比較して，アモルファス状態のケトプロフェンの経皮吸収が促進されたと報告している⁴⁷⁾．アモルファス状態により引き起こされたケトプロフェンの過飽和によって，ケトプロフェンの経皮吸収は促進された．ポリマー層中における薬物の混和性⁴⁸⁾と，非晶質固体分散体からの結晶化⁴⁹⁾は両者とも，薬物-ポリマー混合物の物理的安定性と熱力学的にコントロールされた結晶化方法に関係すると報告されている．この研究では，先発品と後発品とで，それぞれのポリマー中での混和性の変化によって，ケトプロフェンの分子状態は

異なっていると考えられる．さらに，後発品では，ケトプロフェンは医薬品添加物や，マトリックス層に使用されるテープ剤の基剤と水素結合を形成していると推察され，これらの相互作用は薬物の放出や皮膚透過を阻害していると考えられる．また3製剤とも医薬品添加物として1-メントールを含有している．Wuらは，ゲル製剤に対して1-メントールの5%の添加まで，ケトプロフェンの5%以上の皮膚透過性の増加が認められたと報告している⁵⁰⁾．経時的な1-メントールの減少がケトプロフェンの皮膚透過性に影響することも推察されるため，それぞれのテープ剤の保存条件の違いによるメントール含量の変化がケトプロフェンの皮膚透過性に与える影響に関しては，今後の研究課題であると考ええる．溶出試験においてケトプロフェンの放出に顕著な変化が生じなかったことは興味深く，これはPBS中での水素結合の速やかな解離のためであると考えられる．溶出試験のデータは，一般的に皮膚透過性プロファイルに反映されることが考えられている^{51, 52)}．しかしながら本研究では，両者の試験結果が必ずしも相関しない可能性が示唆された．したがって，テープ剤の製剤学的特性を評価する際は，様々な試験から多角的に評価すべきであると言えるだろう．

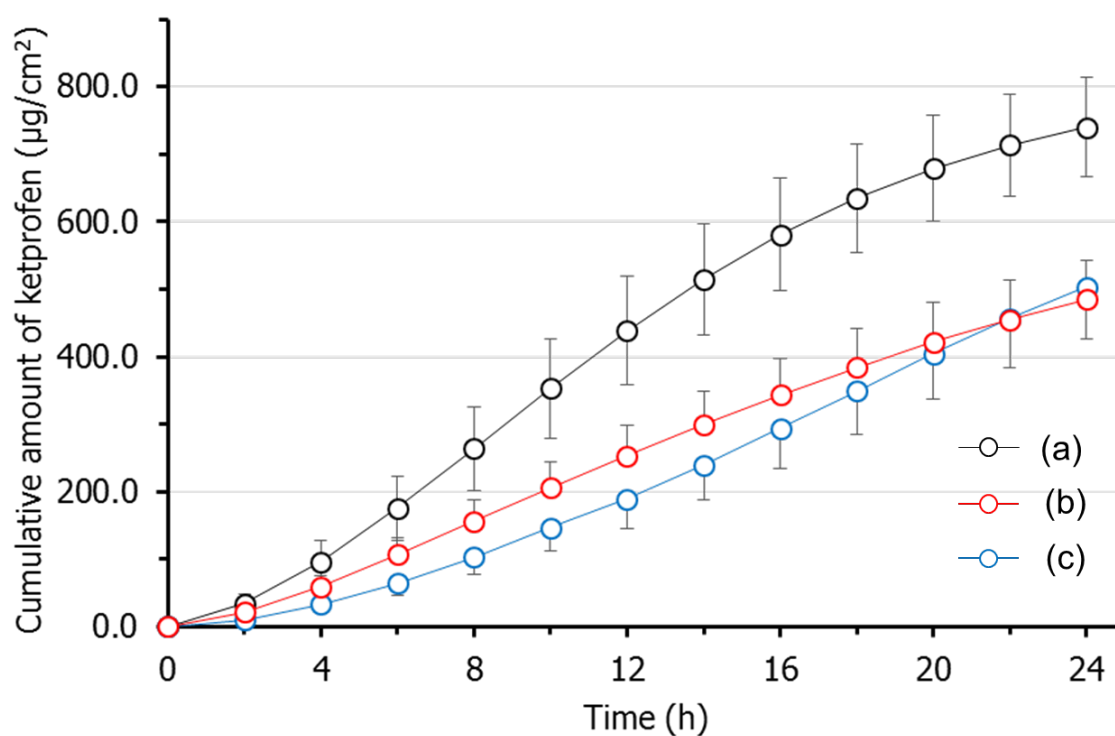


Fig. 5 Skin permeability profiles of ketoprofen from each of the patches (a) Original Patch (b) Generic A (c) Generic B. Error bars represent the calculated standard deviations. ($n = 10$: original and generic patch B, $n = 8$: generic patch A)

Table 2 Permeation Parameters of Ketoprofen from Each of the Three Patches

Patches	Flux ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$)	Cumulative amount (24h) ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Ketoprofen remaining in the patches (%)
Original	14.6 ± 2.8	132.0 ± 11.3	10.0
Generic A	6.2 ± 1.5	114.9 ± 16.8	19.5
Generic B	7.7 ± 2.6	97.8 ± 11.9	23.4

Each data represents the mean \pm S.D.

($n=10$: original and generic patch B, $n=8$: generic patch A).

The asterisk are statistically significant difference, (**) indicating $p < 0.01$.

1. 4. 結論

先発品と後発品との間で、マトリックス層中におけるケトプロフェンの分子状態は異なっていた。これは偏光顕微鏡，ラマン分光分析および PXRD 測定により明らかとなった。先発品に関しては，マトリックス層中に結晶成分がほとんど観察されなかった。一方で，後発品 2 種類に関しては，結晶成分の析出が観察された。3 製剤で溶出プロファイルに有意な差がないにもかかわらず，皮膚透過性試験では先発品に比べ後発品がケトプロフェンの透過速度および累積透過率が低いことが明らかとなった。この 3 つのテープ剤の皮膚透過性の差は，マトリックス中におけるケトプロフェンの結晶性の違いと，ポリマーあるいは 1-メントールのような医薬品添加物とケトプロフェンとの相互作用の違いのために起こったと推察した。

第 2 章 褥瘡治療に用いられる半固形製剤の水分含量の測定

および水分吸収特性の評価

2. 1. 緒言

褥瘡は潰瘍性の疾患であり，高齢者や長期臥床の患者，神経学的な疾患などを有する患者，深い鎮静下におかれている場合等の，自身で身体を動かせない状態で起こりやすい．その原因は長時間の上皮組織の圧迫・ずれであり，QOL を著しく低下させることで知られている．褥瘡の治療は外科的治療と薬剤による保存的治療とに分かれ，肉芽組織・上皮組織の形成，湿潤の程度，感染の有無あるいは患者の栄養状態などにより治療法が決定される^{53, 54)}．

保存的治療においては，外用剤や創傷被覆ドレッシング材を用いて感染症を予防し，患部組織を再形成することが目的となる．創の再形成時には湿潤環境の管理が重要視され，この管理が適切であるかどうかは，治療の結果に大きく影響することが知られている^{55, 56)}．したがって，保存的治療に使用される外用剤選択においては，創からの滲出液の有無および量は重要なファクターとなる．滲出液が多いときに使用される代表的な外用製剤としては，吸水性あるいは水溶性の基剤を含むポビドンヨード・シュガー軟膏やカデキソマー・ヨウ素軟膏，ヨウ素軟膏などがあげられる．滲出液が少ない場合には，乳剤性基剤を含み多量の水分を含有するトレチノイントコフェリル軟膏やスルファジアジン銀を含むクリーム剤などが頻用される．

これらの製剤は，様々な方法でその水分特性が評価されている

⁵⁷⁻⁶⁰⁾。しかしながら，試験法が統一されておらず，それぞれの値を比較することができない。加えて，これらの方法はいずれも，試料の重量変化などから間接的に吸水量を求めるもので，試料中の水分を直接測る方法は用いられていない。そのため，試料中の水分含量を直接定量できる評価方法の確立が求められる。

現在，試料中の水分を直接定量する方法としてはカールフィッシャー（KF）法があげられる。KF法は医薬品の水分含量測定法として日本薬局方にも一般試験法として収載されている。ある条件下において水とヨウ素が一定のモル比で反応することを利用した滴定法であり，試料中の水分量の絶対値を知ることができる。しかしながら，KF法は破壊的な分析法であるため，経時的な分析法としては応用しがたい。

近年，水分定量法として，近赤外(NIR)分光法の利用が報告されている。NIR分光法では中赤外領域の基準振動ではなく，近赤外領域の微弱な倍音や結合音を観測するため，基本的には試料の前処理が不要で測定できることから，迅速で非破壊的な分析法として知られている。NIRスペクトルは，医薬品の品質管理⁶¹⁻⁶⁹⁾，APIや添加物の定量^{64, 67, 68)}に多数の実績があるほか、水分子に特徴的な吸収ピークを 5200 cm^{-1} と 6900 cm^{-1} に有する⁷⁰⁾ことから食品や工業製品の水分量測定には多くの実績がある^{61, 62, 71-73)}。いくつかのケースでは，多数のNIRスペクトルの吸収帯が存在するために，得られたデータの数学的処理が必要な場合もある^{63, 74)}。

これらの水分定量法は，いずれも固形製剤を対象として開発されてきた。したがって，軟膏やクリームといった半固形製剤に適用さ

れた例はほとんどないのが現状である．加えて，評価の対象となる市販製剤には添加物が多く含まれており，これらが測定に影響を及ぼす可能性がある．

本研究では，褥瘡の治療に広く用いられている市販製剤を試料として，両法による水分含量測定を試みた．また，膜モデルとして Transwell[®]を用いた吸水試験を行い，得られたサンプルを KF 法および NIR 分光法により測定することで，各製剤の経時的な吸水特性の評価を試みた．

2.2. 実験方法

2.2.1. 材料

マクロゴール軟膏(日興製薬株式会社), アクトシン軟膏(マルホ株式会社), ユーパスタコーワ軟膏(興和製薬株式会社), ヨードコート軟膏(マルホ株式会社), カデックス軟膏(スミス・アンド・ネフュー株式会社), ゲーベンクリーム(田辺三菱製薬株式会社), オルセノン軟膏(株式会社ポーラファルマ)は測定試料として用いた. Transwell[®] (Corning 社)は吸水試験に用いた.

2.2.2. 試料の調製

それぞれの試料に最大 85%になるように精製水を添加して水分量を調整し、全体量を 5 g とした. これを練合して均一とし, 水分標準添加試験の測定試料とした. 練合により均一にならなかった製剤については, 練太郎 NRJ-250 (THINKY) を用いて 2000 rpm, 30 秒の条件で混合した.

2.2.3. カールフィッシャー法 (KF 法) による水分測定

KF 法による水分量測定は, 電量滴定法で行った. 装置は AQUACOUNTER AQ-7 (平沼産業) を用いて, 以下の条件で行った. 発生液: アクアライト RO, 対極液: アクアライト CN, 測定所要時間: 0.6 mg H₂O/min. 試料約 5 mg を 1 cm 角のパラフィルム上に秤取し, 反応容器中に投入した. 各試料を 3 回ずつ測定し, 試料の水分含量%の平均値を, 調整した水分含量%に対してプロットした.

2.2.4. 近赤外分光法（NIR 分光法）による水分測定

NIR 分光法による水分測定は，Spectrum One NTS Spotlight350（PerkinElmer）を使用し，透過法で行った．スペクトル測定は以下の条件で行った．測定範囲： $4000\sim12000\text{ cm}^{-1}$ ，スペーサー： 0.2 mm ，積算回数：32 回，分解能： 8 cm^{-1} ．各試料を 3 回ずつ測定し，得られた吸光スペクトルに対して，ベースラインをそろえるため，2 次微分処理を行った．その後， 5200 cm^{-1} 付近のピークの高さを，調整した水分含量％に対してプロットした．透過法でプロットに相関が得られなかった製剤については，拡散反射法により以下の条件で再測定を行った．測定範囲： $4000\sim12000\text{ cm}^{-1}$ ，積算回数：32 回，分解能： 8 cm^{-1} ．拡散反射法では，試料内部で複数回吸収を受けた拡散反射光を観測するため，透過法に比べて弱い吸収ピークが誇張されやすく，本来定量には向かない．そこで，Kubelka-Munk 変換を行うことでその影響を補正した．各試料を 3 回ずつ測定し，得られた 2 次微分スペクトルの 5200 cm^{-1} 付近のピーク高さを，調整した水分含量％に対してプロットした．

2.2.5. グリセリンによる NIR スペクトルへの影響の検討

モデル軟膏剤として，グリセリンの含量を調整した親水クリームをそれぞれ 10 g 作製した．白色ワセリン 2.5 g ，ステアリルアルコール 2.0 g ，ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油 0.4 g ，モノステアリン酸グリセリン 0.1 g を 70°C の温浴槽で融解させた．その後，精製水とグリセリンを Table 3 に示した比率で混合した液体 5 g を加え，室温になるまで攪拌しながら冷却し測定試料とした．比較対象群と

して，グリセリンの代わりにマクロゴールを使用した親水クリームも作製した．各試料の水分含量を KF 法により測定した．また，NIR スペクトルを同様の条件で取得し，評価した．

Table 3 Composition of samples.

No.	Water	GLY (MGL)	White petrolatum	Stearyl alcohol	Polyoxyethylene hydrogenated caster oil	Glycerin monostearate	Total weight
1	5	0	2.5	2	0.4	0.1	10
2	3.8	1.2	2.5	2	0.4	0.1	10
3	3	2	2.5	2	0.4	0.1	10
4	2	3	2.5	2	0.4	0.1	10
5	1.2	3.8	2.5	2	0.4	0.1	10
6	1	5	2.5	2	0.4	0.1	11
7	0	5	2.5	2	0.4	0.1	10

2.2.6. 製剤の水分吸収能の検討

各製剤の時間経過による吸水量を試験した。吸水試験の器具として Corning 社の Transwell[®]を使用した。Transwell[®]は、通常は細胞シートの培養に用いられるものである。この試験では、ポリエステル製の薄膜で直径 24 mm、膜内の小孔径が 0.4 μm のものを使用した。試料およそ 2 g を、表面が平らになるようにセルの内部に充填した。精製水 1000 - 2000 μL をセルの受け皿に注入した後、セルを受け皿にセットした。0 分から 180 分までの任意の試験時間を設定して静置し、それぞれ試料を 3 つずつ調製した。調製した試料は KF 法および NIR 分光法により評価した。

2.3. 結果・考察

2.3.1. カールフィッシャー法による水分測定

横軸に調節した水分量を，縦軸に測定された水分量をプロットすると，その回帰直線の傾きは添加回収率の指標となる．すなわち傾きの値が 1 に近いほど，添加して調節した水分量と測定値が一致していることを表している．得られたプロットと回帰直線を Fig. 6 に，それらの傾きと R^2 値を Table 4 に示す．

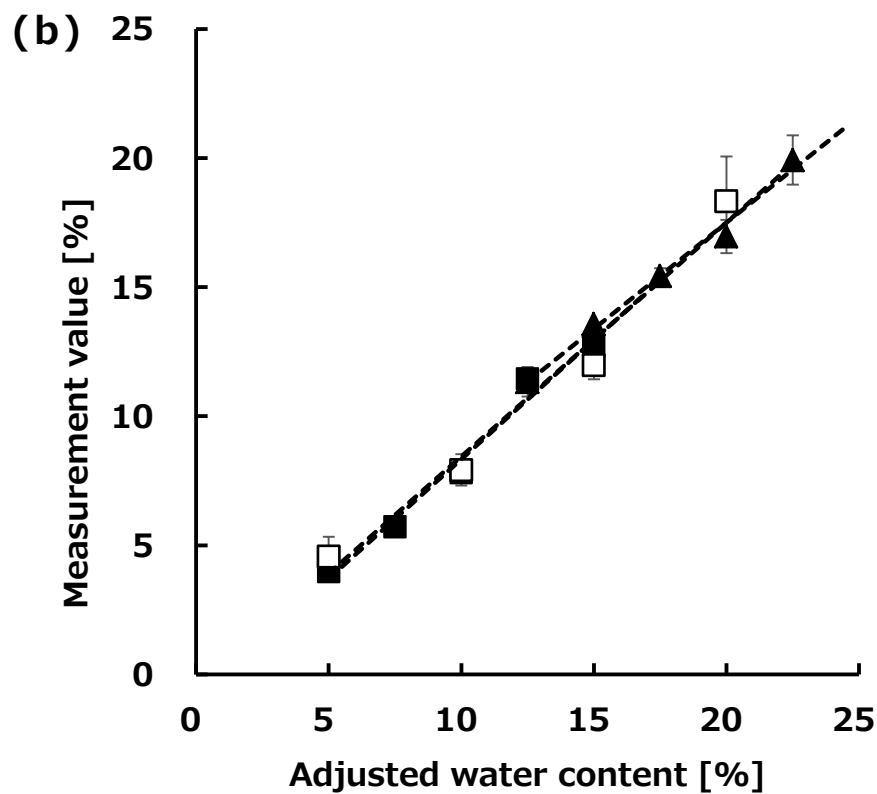
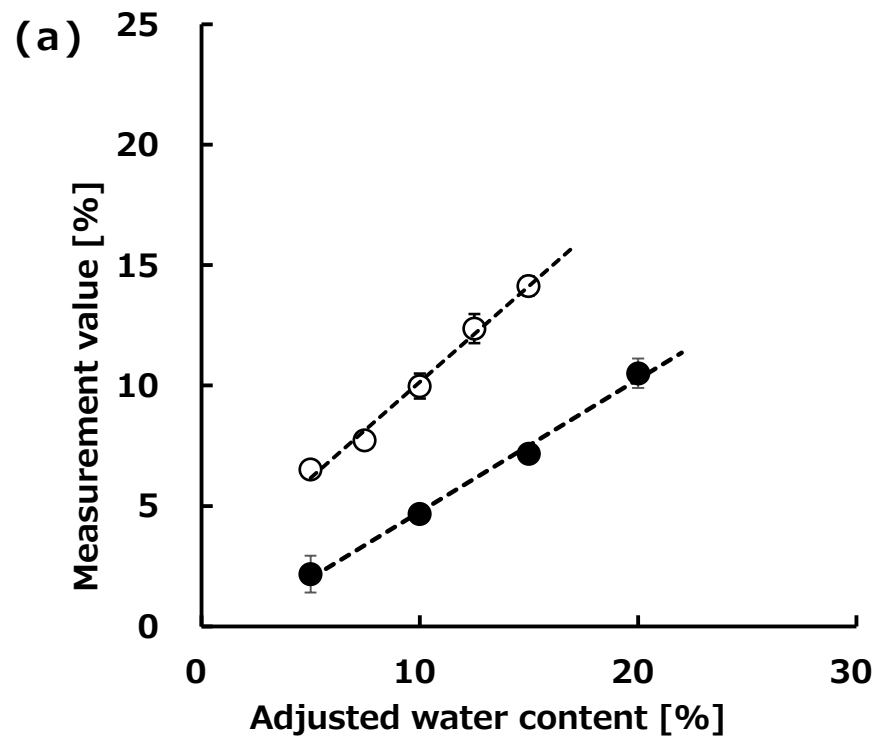


Fig. 6ab Plots of measurement value against adjusted water content.
 (a) ● : Macrologol ointment (MGL), ○ : Actosin ointment (ACT)
 (b) ▲ : U-pasta Kowa ointment (UPT), ■ : Cadex ointment (CDX),
 □ : Iodocoat ointment (IOD)

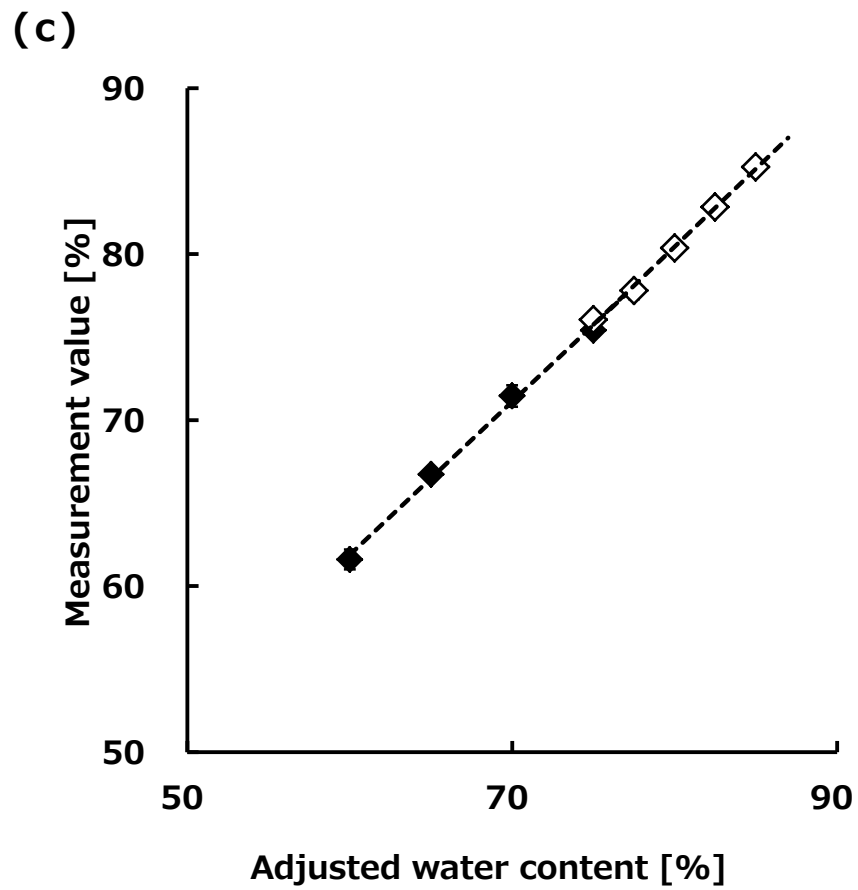


Fig. 6c Plots of measurement value against adjusted water content.
(c) ◆ : Geben cream (GBN), ◇ : Olcenon ointment (OLC)

Table 4 Recovery Rate and R^2 Value measured by KF method and NIR spectroscopy.

Samples	KF method		NIR spectroscopy	
	Recovery Rate (RR)	R^2	R^2 Transmission	R^2 Diffusion reflection
Macrogol ointment (MGL)	0.7029	0.9792	0.9943	—
Actosin ointment (ACT)	0.7960	0.9907	0.9994	—
U-pasta Kowa ointment (UPT)	1.0174	0.9950	0.9743	—
Cadex ointment (CDX)	0.9064	0.9909	0.9509	—
Iodocoat ointment (IOD)	0.9248	0.9791	0.9978	—
Geben cream (GBN)	0.9231	0.9967	0.0840	0.9521
Olcenon ointment (OLC)	0.9374	0.9965	0.0364	0.6423

結果として、全ての試料において、良好な R^2 値を示す回帰直線が得られた。しかしながら、マクロゴール軟膏およびアクトシン軟膏の添加回収率は 0.7 程度と低い値を示した (Table 4)。両製剤はマクロゴールを主要な基剤とすることから、多数の水酸基を有するマクロゴールが何らかの機構でカールフィッシャー反応を阻害したと推察された。ただし、水分量が 5~20% の範囲では良好な直線性が得られたことから、各製剤に応じた検量線を作成することで水分量の評価が可能であると考えられた。一方、カデックス軟膏は KF 試液に不溶な吸水性のポリマーを含んでおり、この構造内からの水分抽出が律速となるため、通常の測定条件では添加回収率が 0.65 と低い値を示した。このことは測定時間を延長することで大幅に改善された (Fig. 6c)。

以上の結果から、KF 法により、半固形製剤の水分含量測定は可能であると考えられた。しかしながら、KF 法による測定では、試料が KF 試液に溶解する過程を経るので、基剤ごとに適当な発生液を選択する必要があると思われた。また、化学反応を利用した測定法であるため、市販製剤では添加剤やその他の成分による副次的な反応にも注意が必要であることが示唆された。

2.3.2. 近赤外（NIR）分光法による水分測定

NIR 分光法による測定においては， 5200 cm^{-1} 付近に水に由来する特徴的な吸収ピークが認められる．したがって，このピーク高さを用いることにより相対的な水分測定が可能と考えられる．

まず，NIR の透過法による測定においては，マクロゴール軟膏，アクトシン軟膏，ユーパスタコーワ軟膏，ヨードコート軟膏およびカデックス軟膏のいずれの系においても水分量に依存して 5200 cm^{-1} 付近のピーク強度が増大した．そこで，このスペクトルに対して 2 次微分処理を行うことにより， 5200 cm^{-1} 付近のピーク値（2 次微分値）の減少（2 次微分処理によりピークの上下が逆転しているため）が認められた．Fig. 7 に全製剤の原スペクトルと 2 次微分スペクトルを示す．そして，この 2 次微分値のピーク高さを，調整した水分量に対してプロットしたところ，良好な R^2 値を示す回帰直線が得られた（Fig. 8, Table 4）．

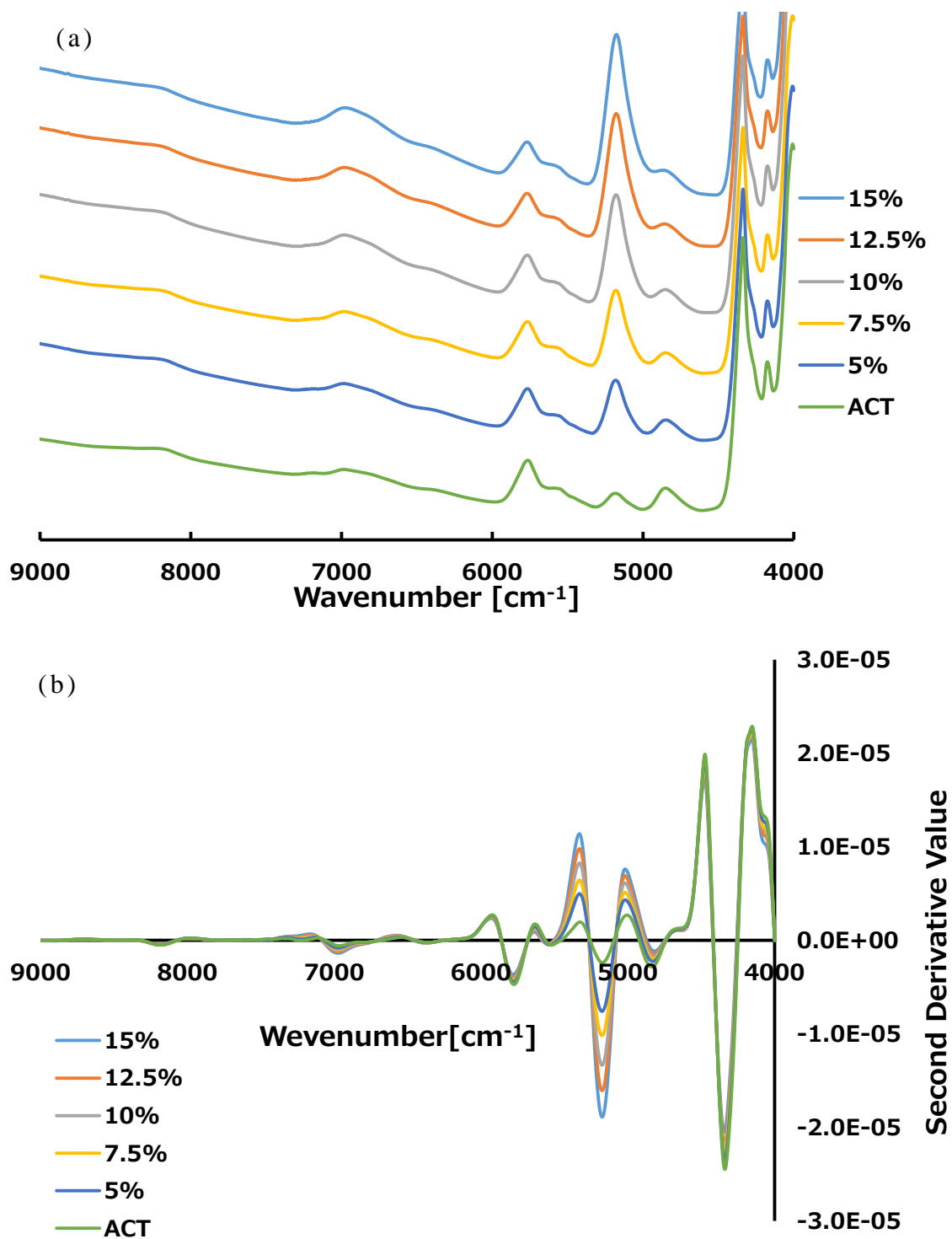


Fig. 7ab NIR transmission spectra of ACT. (a) Original spectra, (b) Second derivative spectra.

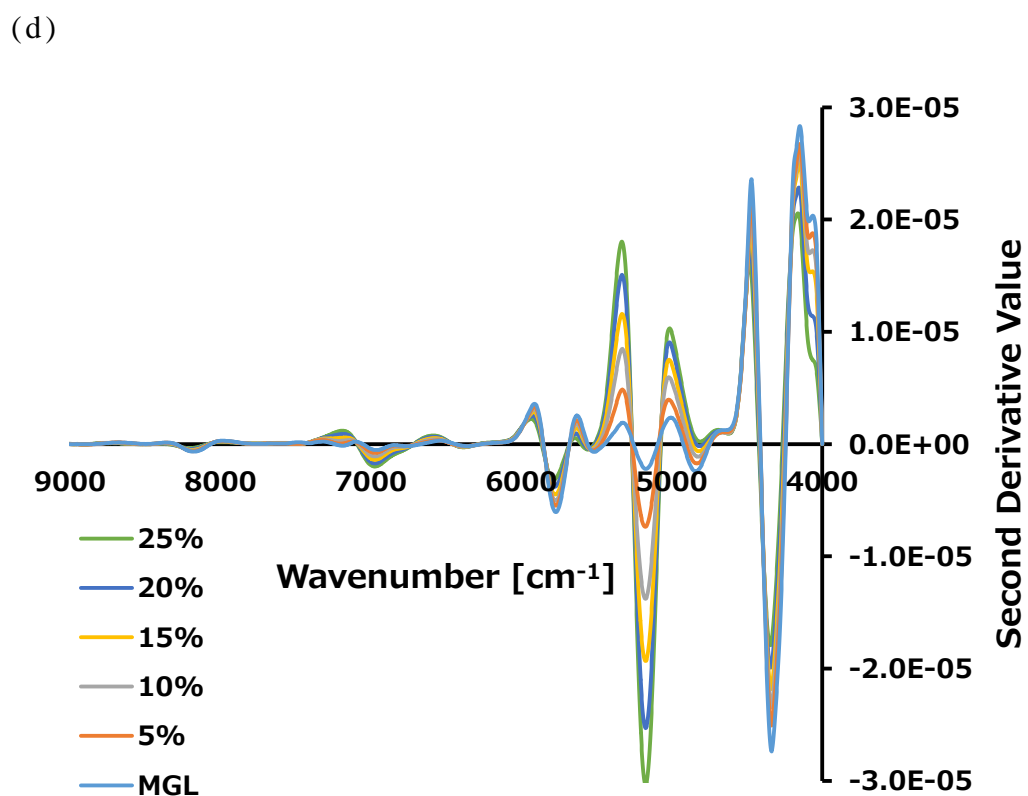
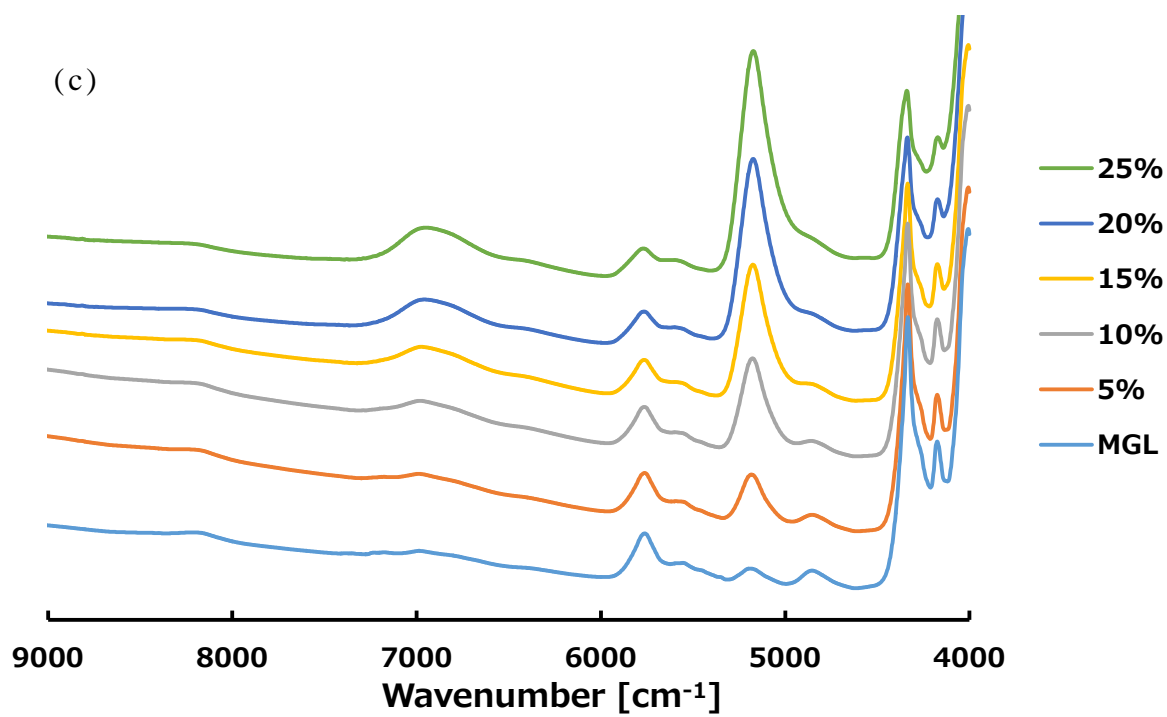


Fig. 7cd NIR transmission spectra of MGL. (c) Original spectra, (d) Second derivative spectra.

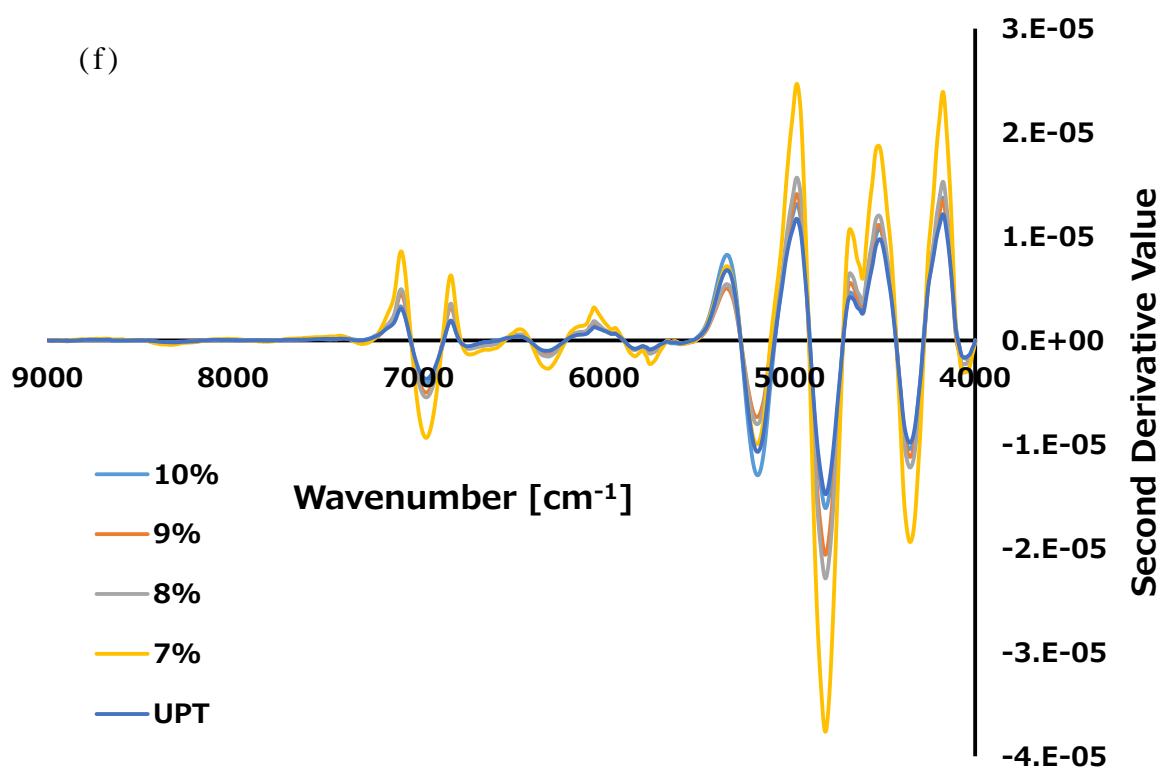
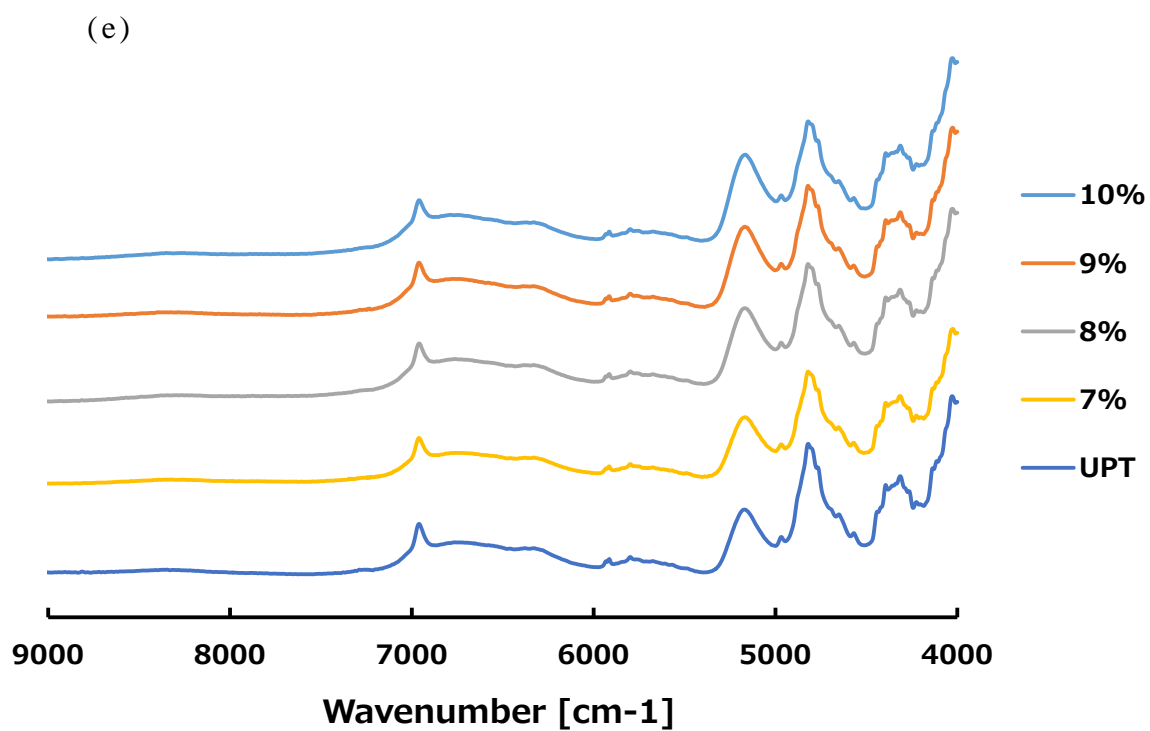


Fig. 7ef NIR transmission spectra of UPT. (e) Original spectra, (f) Second derivative spectra.

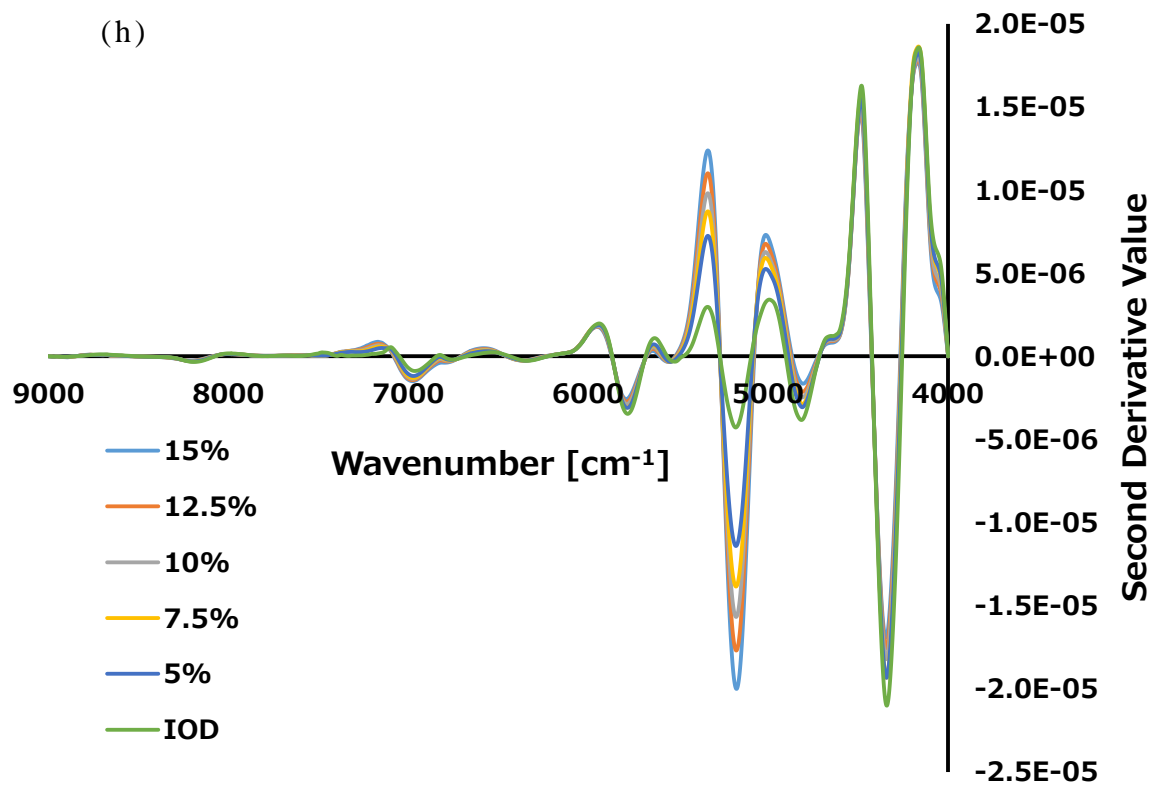
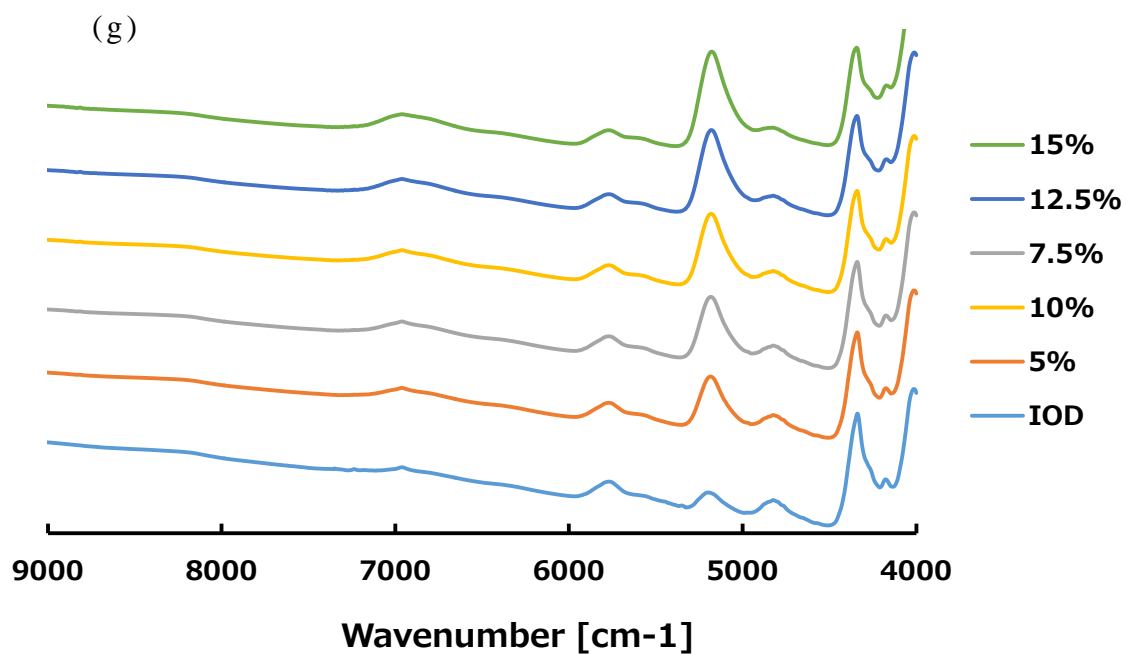


Fig. 7gh NIR transmission spectra of IOD. (g) Original spectra, (h) Second derivative spectra.

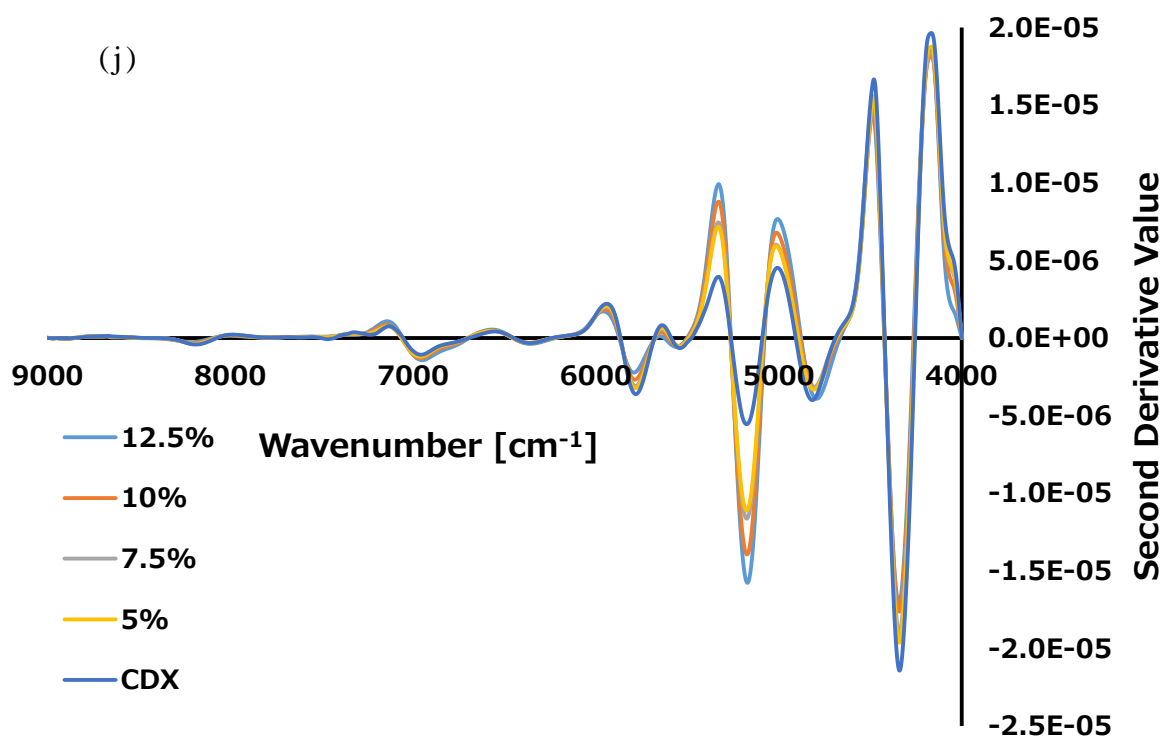
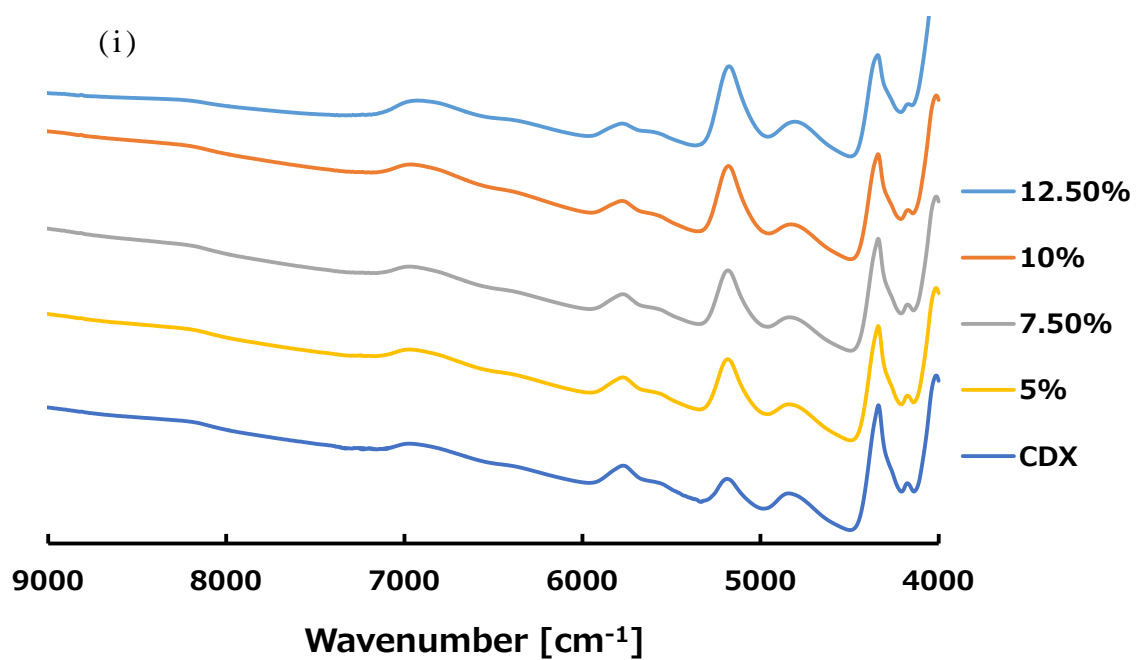


Fig. 7ij NIR transmission spectra of CDX. (i) Original spectra, (j) Second derivative spectra.

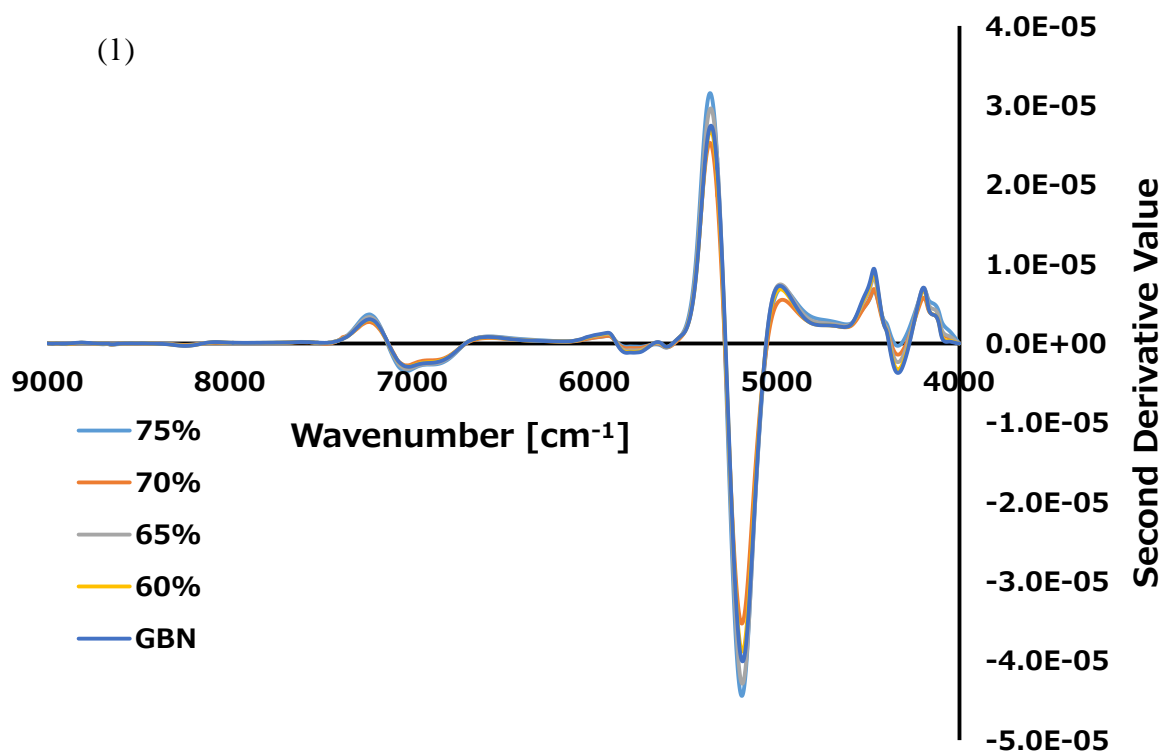
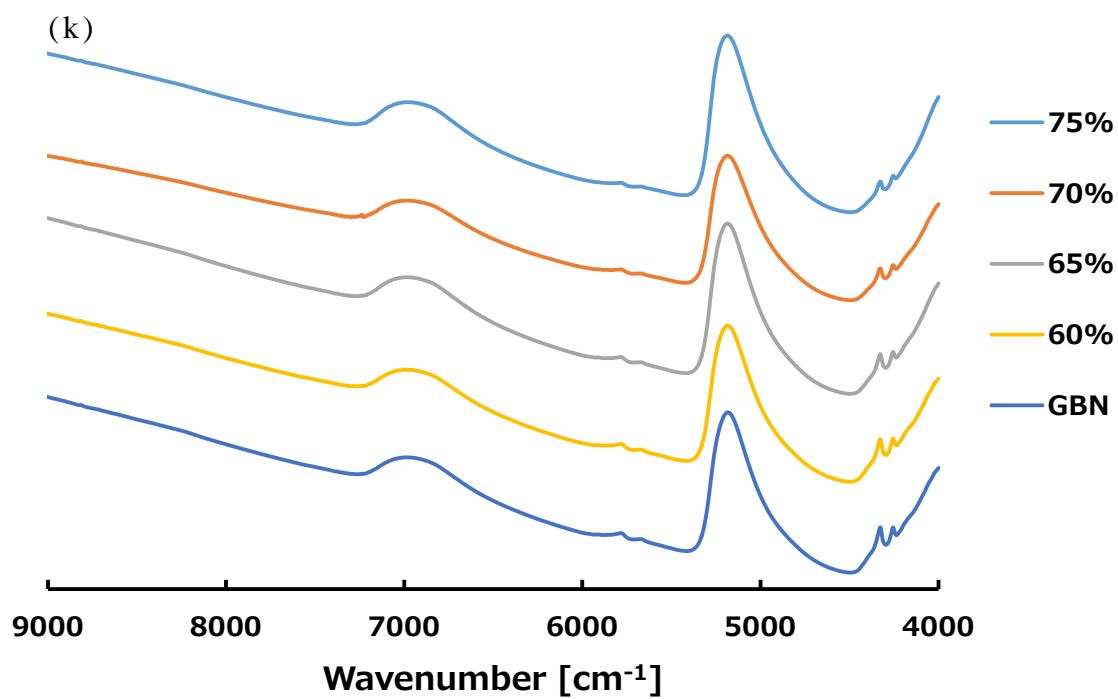


Fig. 7kl NIR transmission spectra of GBN. (k) Original spectra, (l) Second derivative spectra.

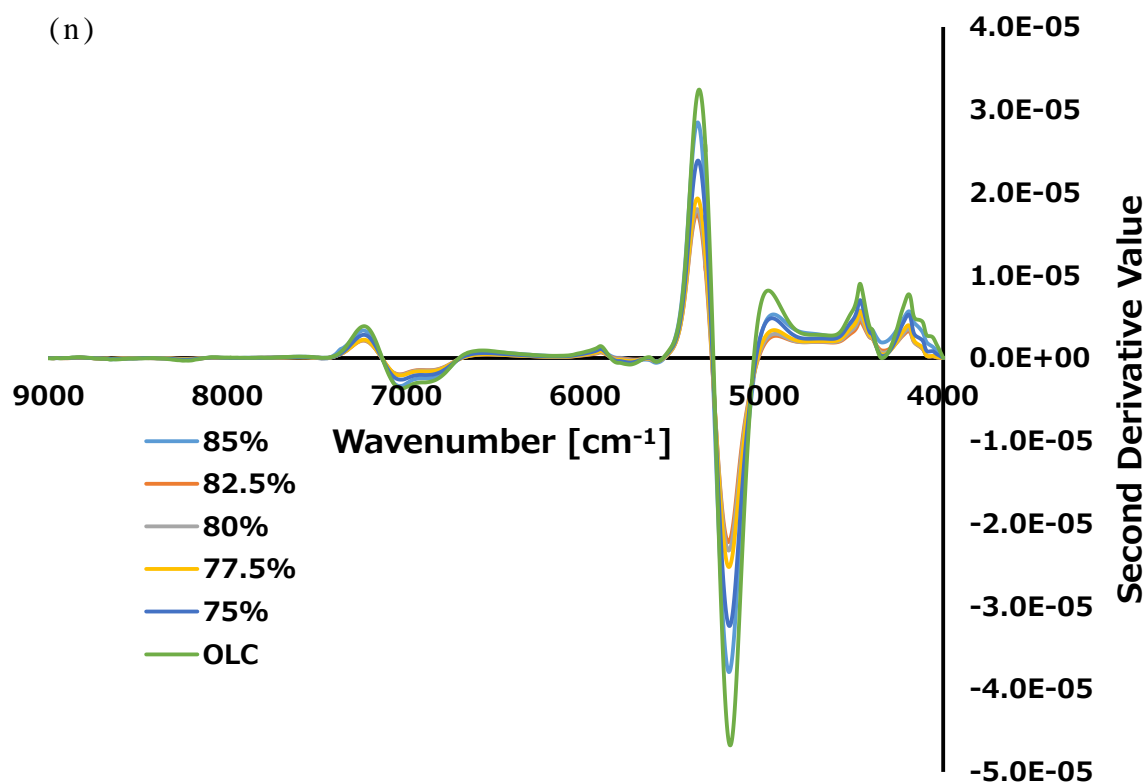
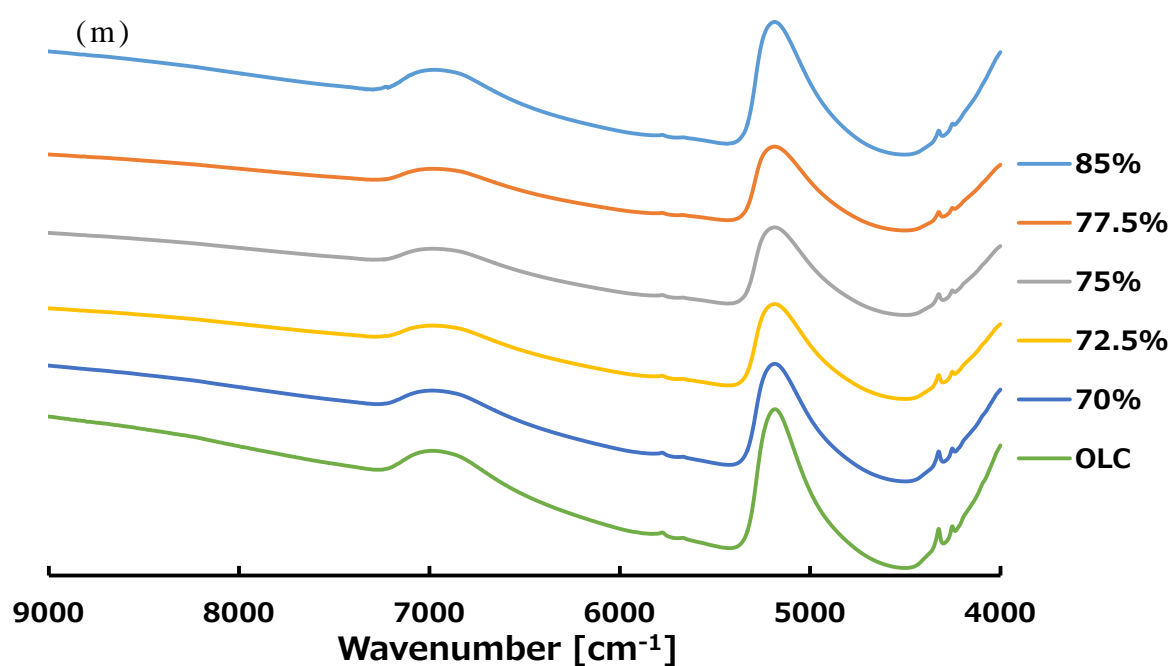


Fig. 7mn NIR transmission spectra of OLC. (m) Original spectra, (n) Second derivative spectra.

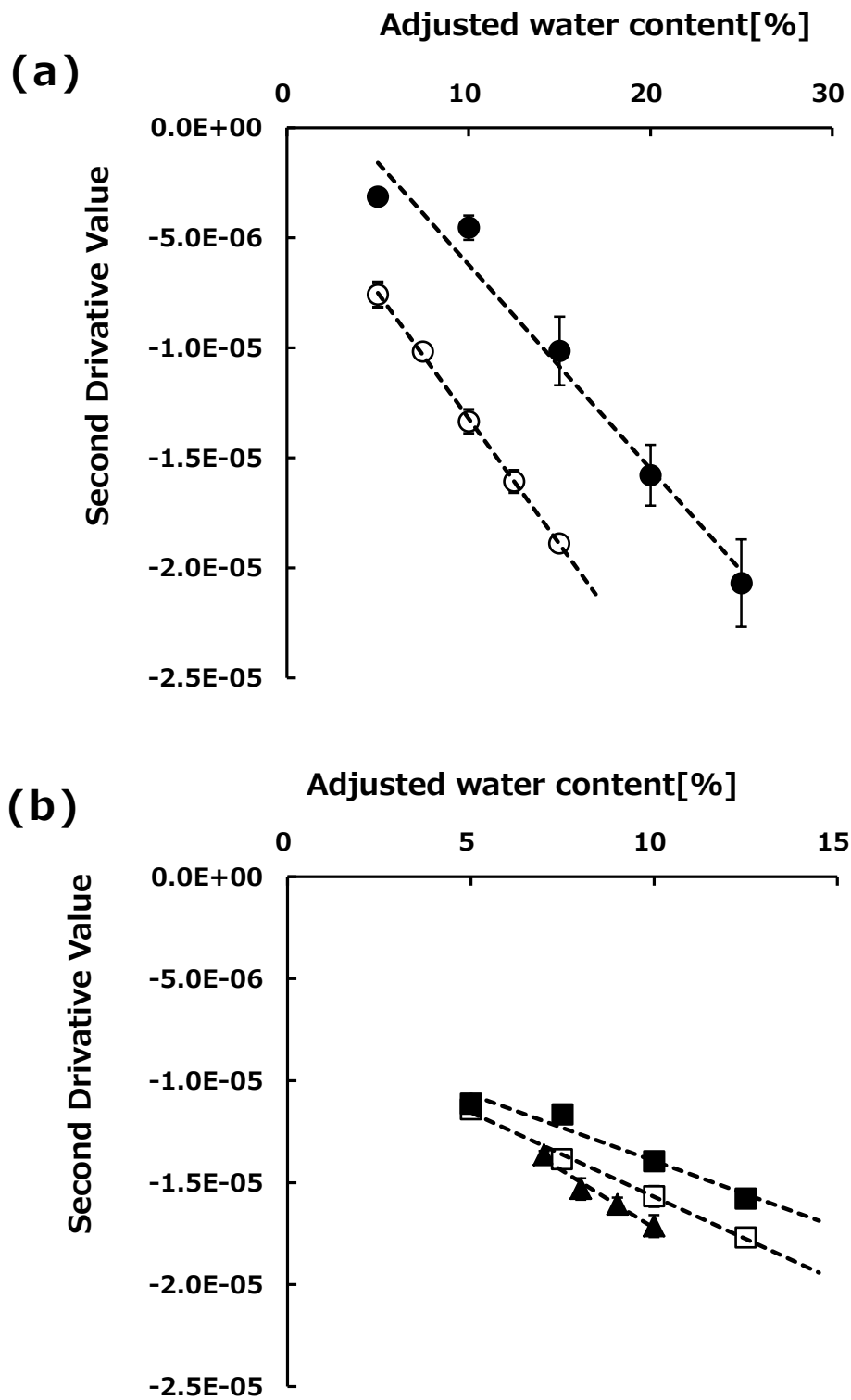


Fig. 8ab Plots of second derivative value against adjusted water content.

(a) ● : Macroglol ointment (MGL), ○ : Actosin ointment (ACT)

(b) ▲ : U-pasta Kowa ointment (UPT), ■ : Cadex ointment (CDX),
□ : Iodocoat ointment (IOD)

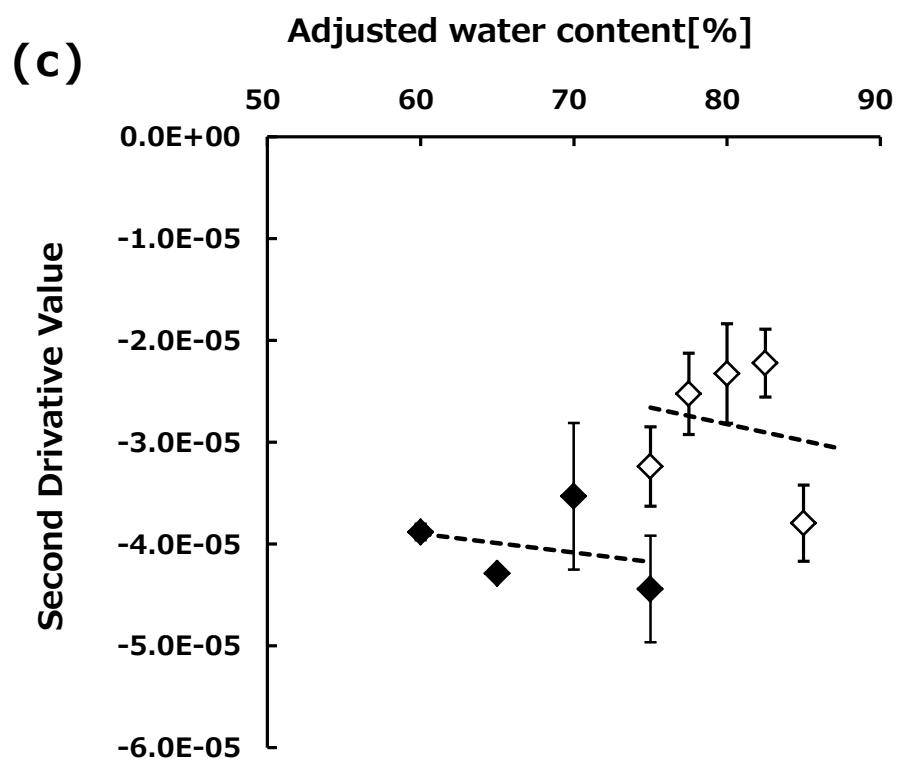


Fig. 8c Plots of second derivative value against adjusted water content.
(c) \blacklozenge : Geben cream (GBN), \diamond : Olcenon ointment (OLC)

しかしながら，オルセノン軟膏，ゲーベンクリームのクリーム剤 2 剤については，いずれも相関が得られなかった (Fig. 8c, Table 4). このことに関しては，クリーム製剤は乳剤性基剤を含みエマルションを形成しているために，透過法では入射光が散乱し，検出部に十分な光が届かなかったことで正確な測定が困難であったと思われる．このことは，測定モードを透過法から拡散反射法に切り替えることで改善されると考えられた．

そこで，オルセノン軟膏とゲーベンクリームを拡散反射法で測定し，その 2 次微分値を調整水分量に対しプロットした結果を Fig. 9 に， R^2 値を Table 4 に示す．

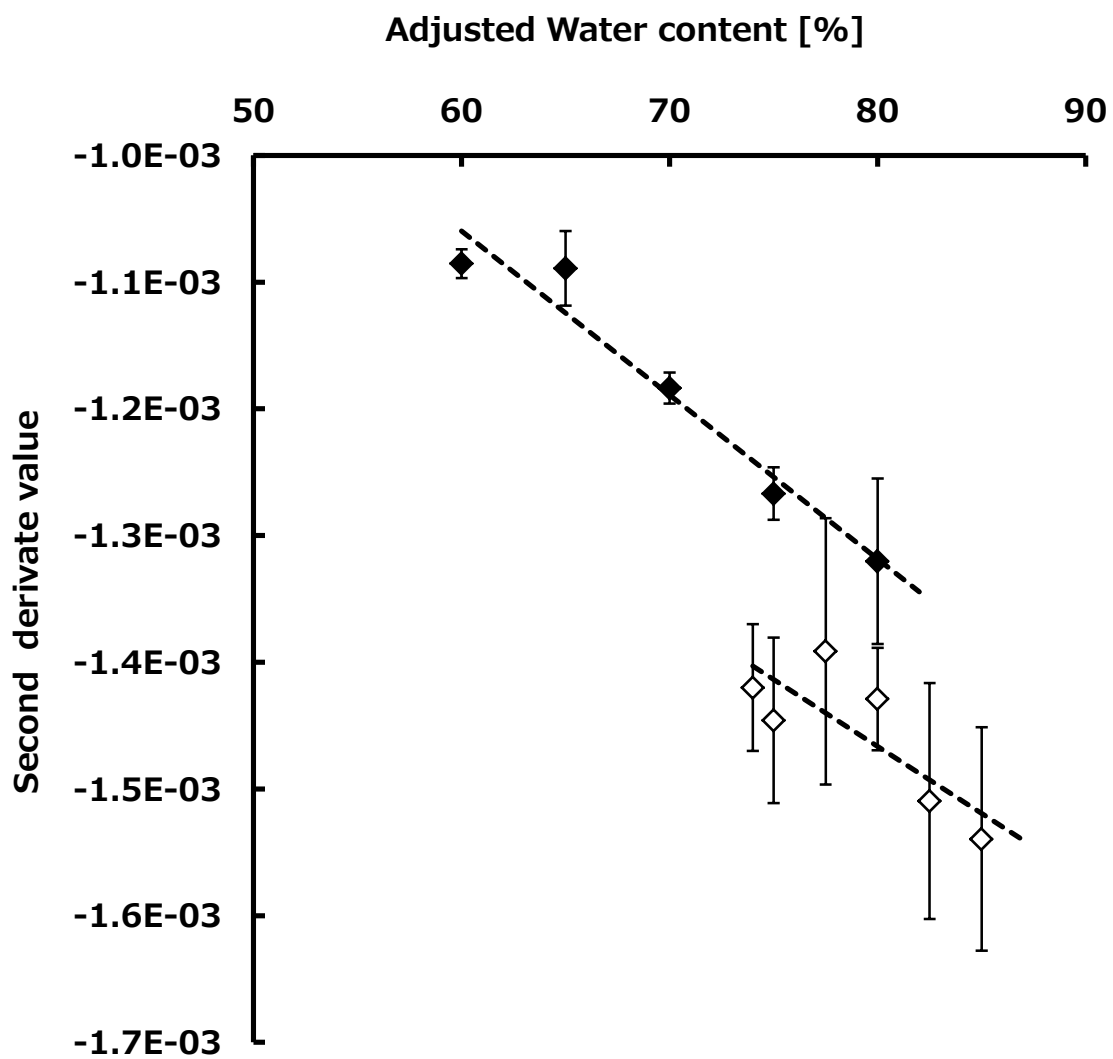


Fig. 9 Plots of Second derivative value measured by diffusion reflection mode against adjusted water content. \blacklozenge : GBN, \diamond : OLC

結果として、いずれの製剤も透過法で測定した場合に比べて R^2 値が改善した。この改善は特にゲーベンクリームで著しく、他の透過法で定量性が得られた製剤と遜色ない R^2 値を示した。オルセノン軟膏で、ゲーベンクリームほど高い定量性が得られなかったことは、製剤に含まれるグリセリンにより 5200 cm^{-1} のピークが影響を受けたためと考えられた。なぜなら、我々の以前の検討において、プロピレングリコール (PG) を含むクリーム製剤では 5200 cm^{-1} 付近のピークがシフトする知見を得ているからである⁷⁵⁾。そこで、親水クリームをモデル製剤として、グリセリン (GLY) の含有量を変動させた実験では、コントロール (CTL) 群に比べ、GLY 群で有意な水由来のピークにおけるシフトが認められた。NIR 拡散反射スペクトルを Fig. 10 に、 5200 cm^{-1} 付近と 6900 cm^{-1} 付近の 2 次微分スペクトルを Fig. 11 および Fig. 12 に示す。また、GLY の含量に対しピークトップの波数をプロットした結果、このシフトは 5200 cm^{-1} 付近より 6900 cm^{-1} 付近で顕著であった (Fig. 13, Table 5)。水分量に対してピーク高さをプロットすると、直線性の指標となる R^2 値はピークシフトの大きい 6900 cm^{-1} 付近で低かった (Fig. 14, Table 5)。このことから、グリセリンによるピークシフトはピーク強度を用いた定量性に影響することが示唆された。したがって、この影響を補正することにより、さらに定量性の改善が期待される。

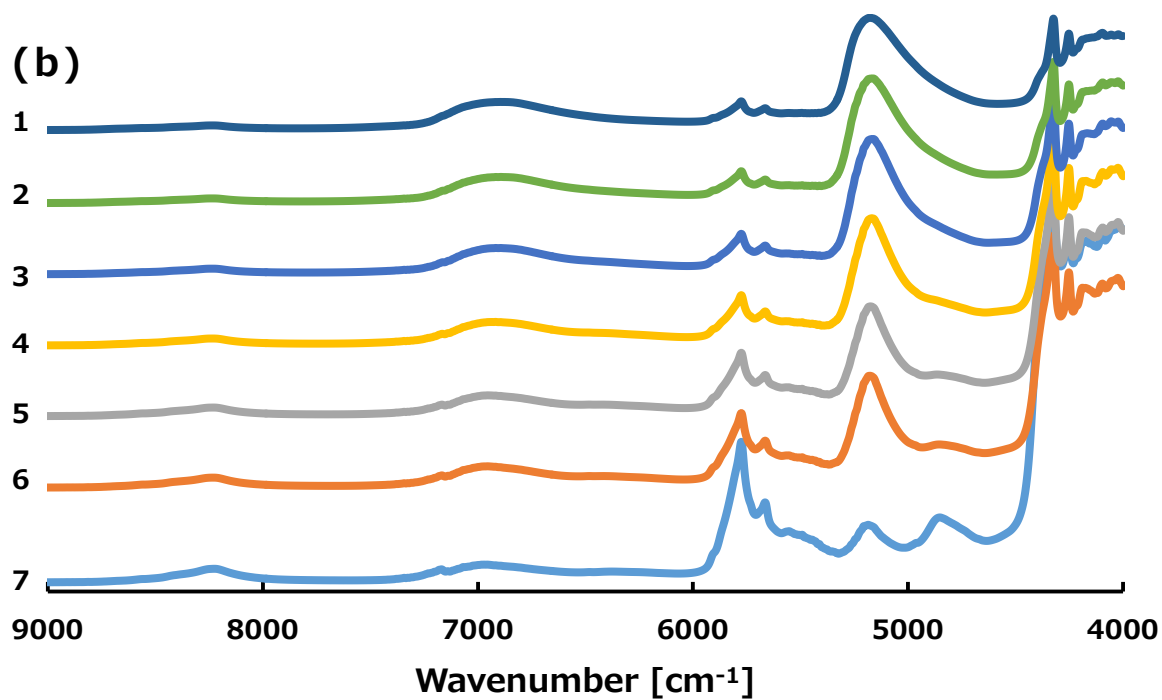
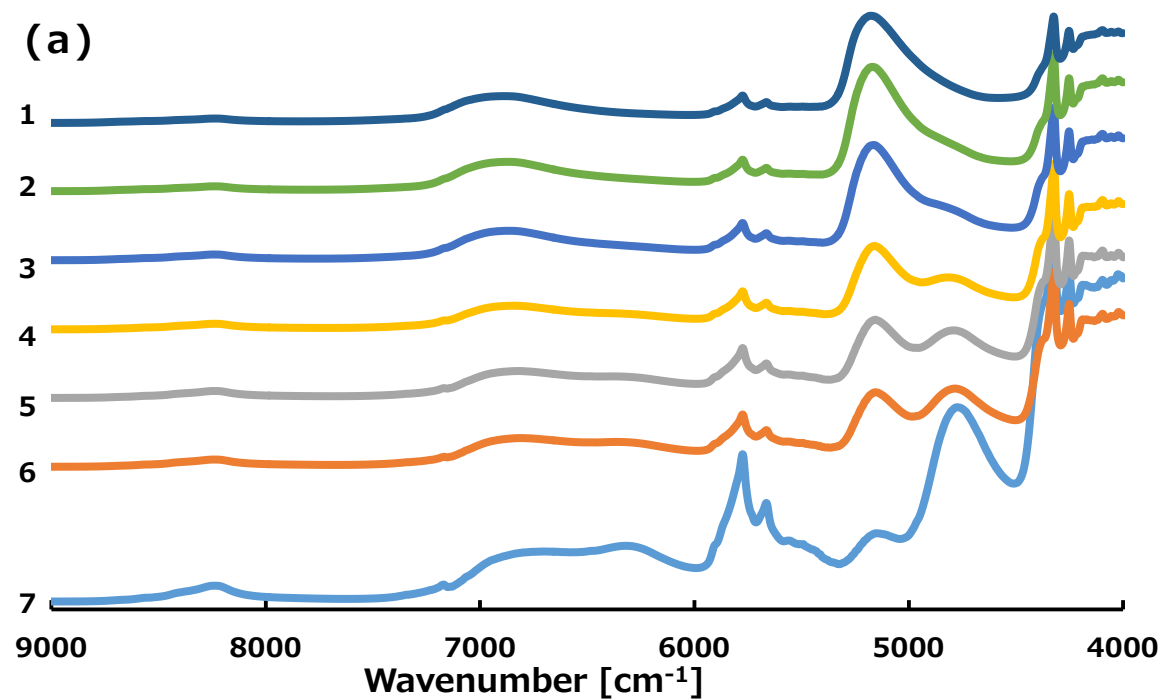


Fig. 10ab Original spectra (a) GLY group (b) CTL group

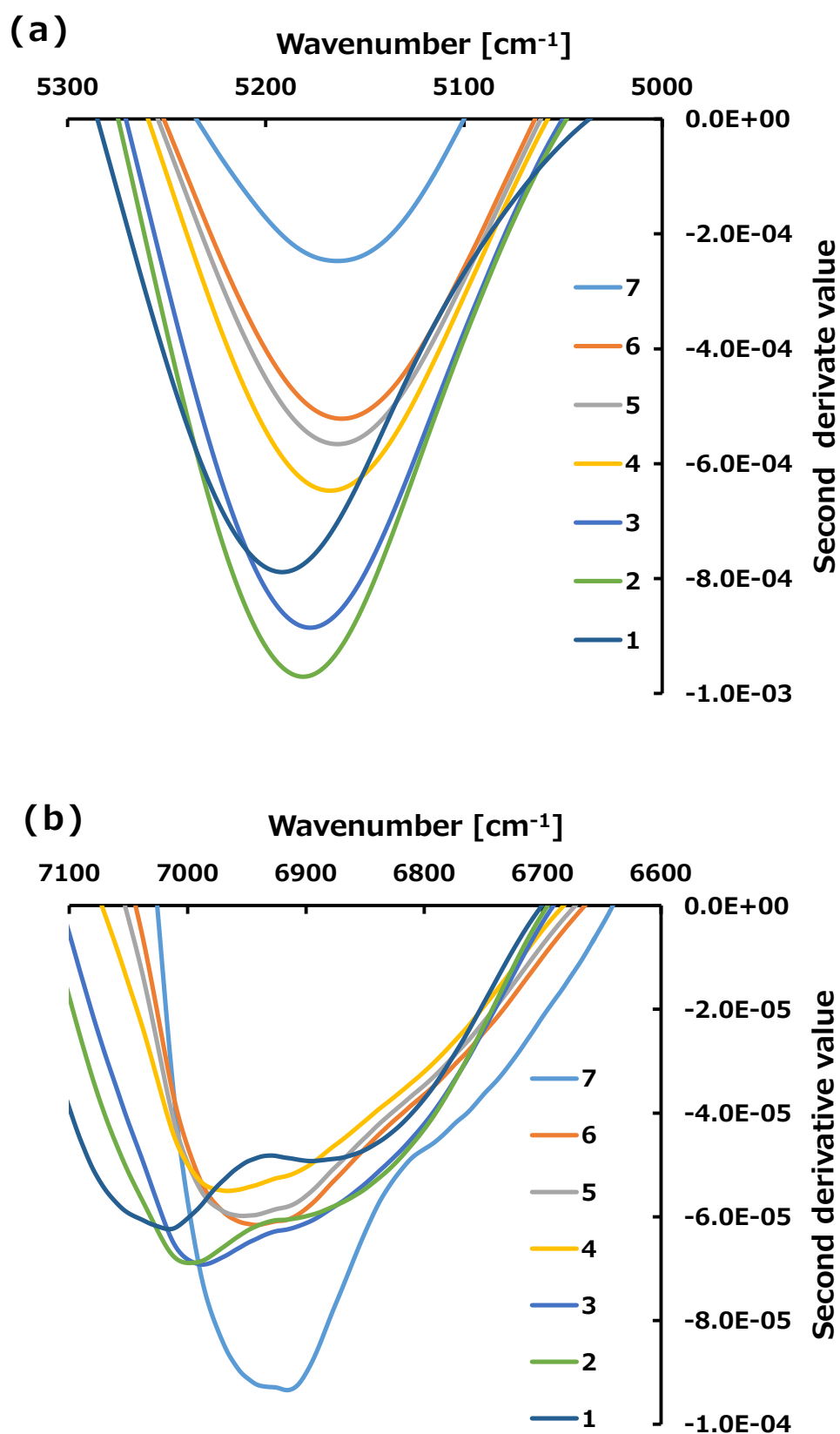


Fig. 11ab Second derivative spectra of GLY group
(a) around 5200 cm^{-1} (b) around 6900 cm^{-1} .

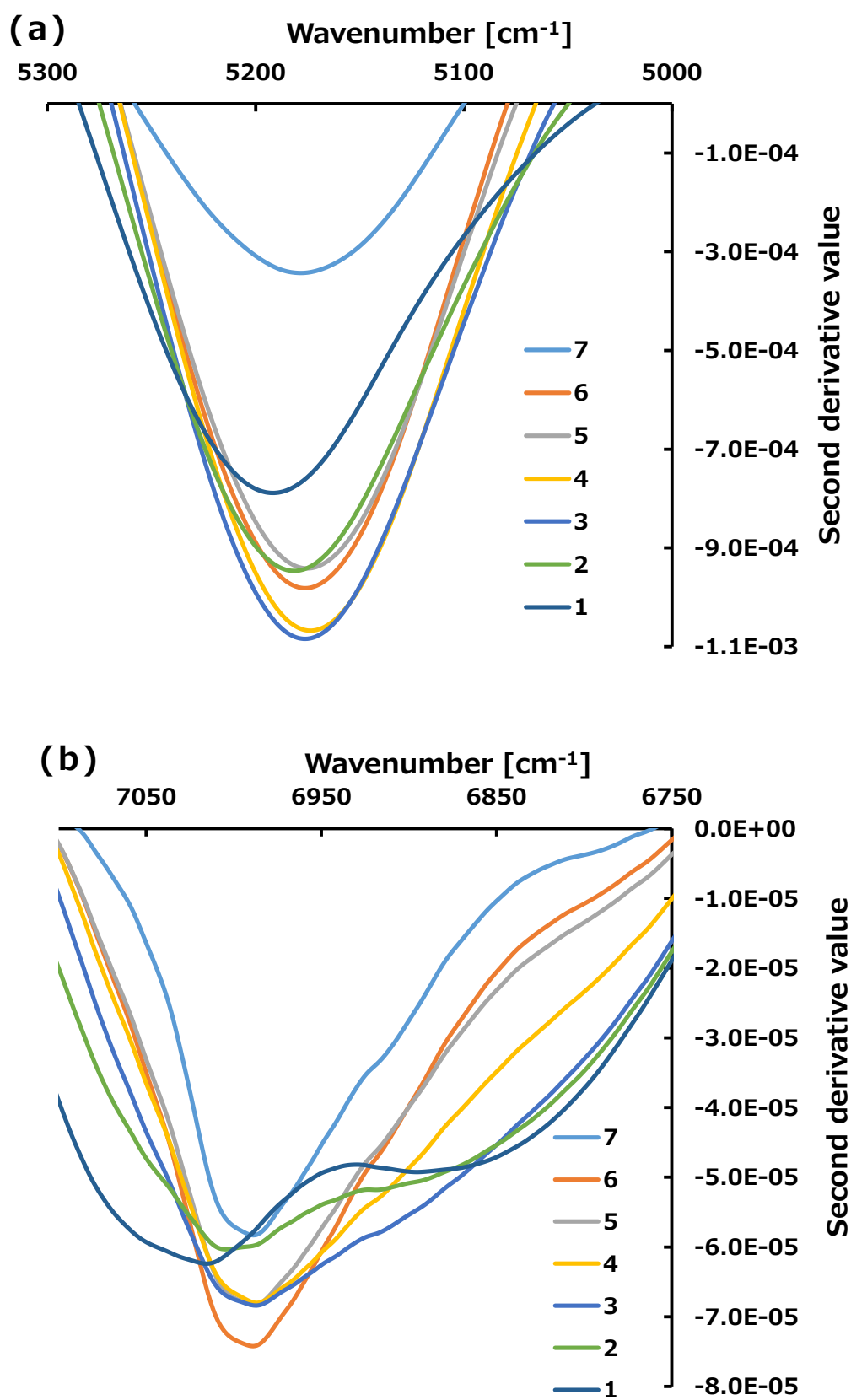


Fig. 12ab Second derivative spectra of MGL group
(a) around 5200 cm^{-1} (b) around 6900 cm^{-1} .

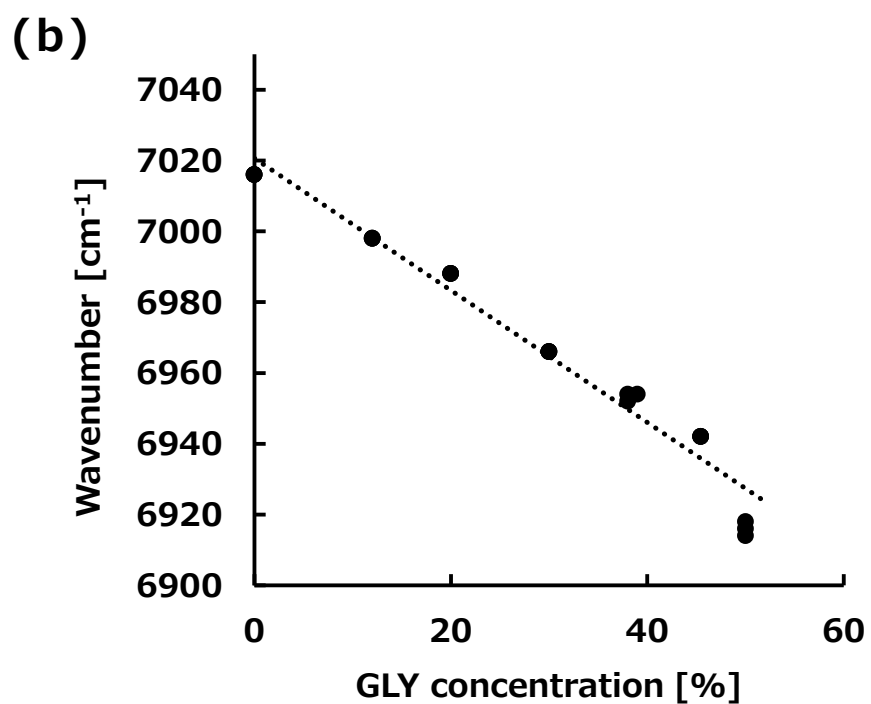
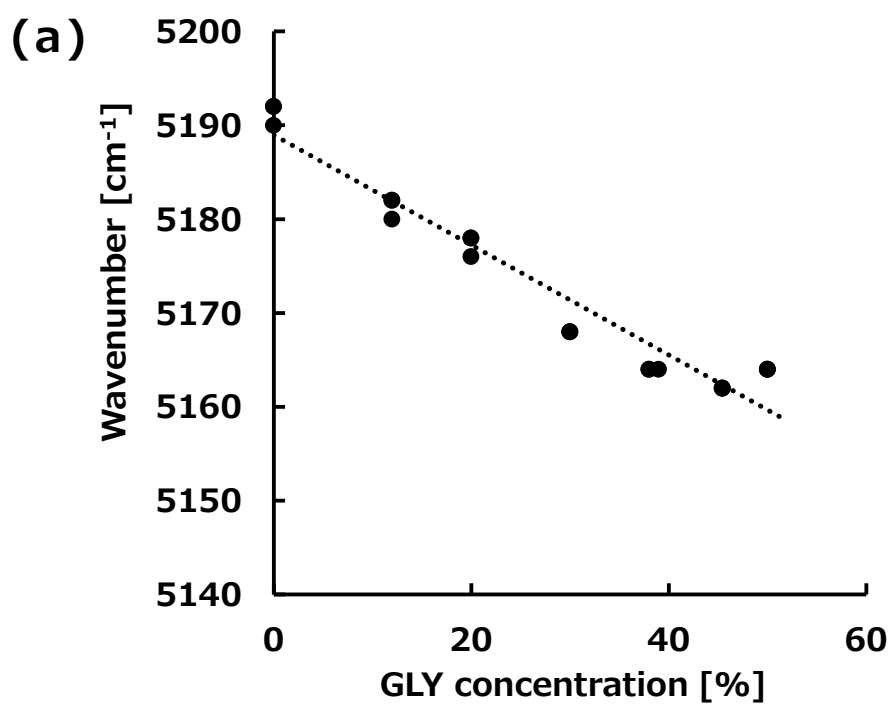


Fig. 13ab Plots of wavenumber of peaks against GLY concentration (a) around 5200 cm^{-1} (b) around 6900 cm^{-1} .

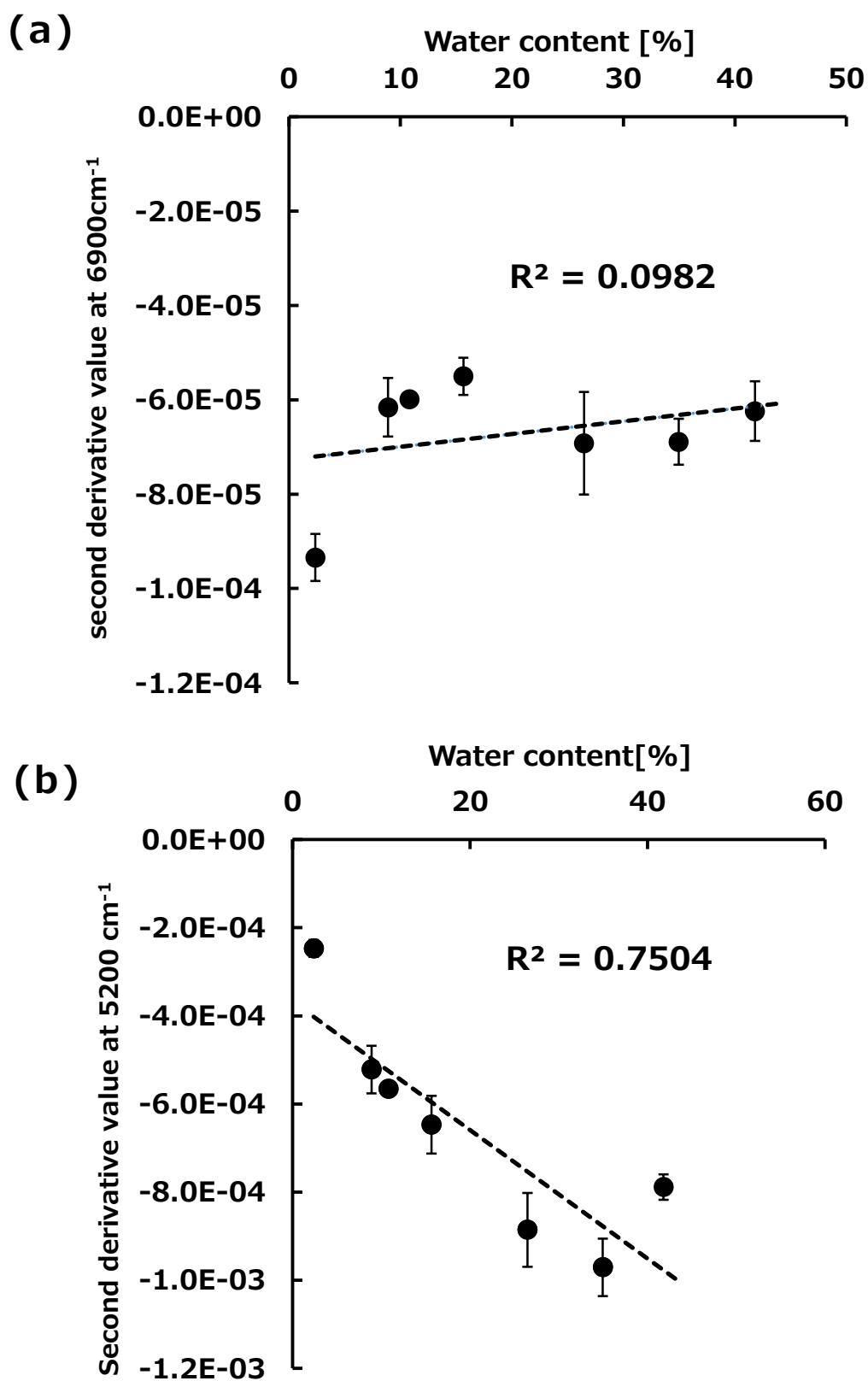


Fig. 14ab Plots of second derivative value against water content (a) around 5200 cm⁻¹ (b) around 6900 cm⁻¹.

Table 5 Comparison between peaks around 5200 cm^{-1} and 6900 cm^{-1} at GLY group.

Wavenumber of peaks (cm^{-1})	Ratio of peak shift ($\text{cm}^{-1}/\%$)	R^2 value of regression line
5200	-0.5862	0.7504
6900	-1.8652	0.0982

これらの結果から，NIR 分光法により，半固形製剤の水分含量が測定できた．しかしながら，水分含量が 85%を超える試料については， 5200 cm^{-1} 付近の吸収が飽和してしまうことが考えられる．そのため，高水分領域では， 6900 cm^{-1} 付近における水の伸縮振動の第一倍音に由来するピークを活用することで，さらに幅広い水分含量領域での測定が可能であることが考えられた．

2.3.3. 製剤の吸収特性の検討

はじめに，Transwell[®]を用いた吸水試験を行い，KF法により測定された水分量を時間に対してプロットした結果を Fig. 15 に示す．マクロゴール軟膏，アクトシン軟膏，ユーパスタコーワ軟膏，ヨードコート軟膏，カデックス軟膏の 5 製剤について，時間の経過に伴う水分量の増加が認められた．これらの製剤はいずれも初期に高い吸水速度を示し，時間が経過するにつれその速度が低下する挙動を示した．なお，オルセノン軟膏とゲーベンクリームについては，吸水が認められなかったため，評価しなかった．これらの製剤は元来多量の水分を保持しているため，これ以上の水分を吸収することはできないと考えられた．

試験開始 60 分までの立ち上がりの傾きと試験終了後の最大吸水量を Table 6 に示す．この傾きは吸水速度の指標となり，値が大きいほど相対的に吸水速度が大きいことを示している．製剤間で，吸水速度と最大吸水量には大きな違いがあることが分かった．同じ基剤を含むマクロゴール軟膏とアクトシン軟膏では吸水速度，最大吸水量がともに 2 倍近い差が認められたことから，これらの差異は基剤の吸水能力のみによるものではなく，製剤に含まれる添加物による浸透圧の影響を多分に受けた結果と考えられた．

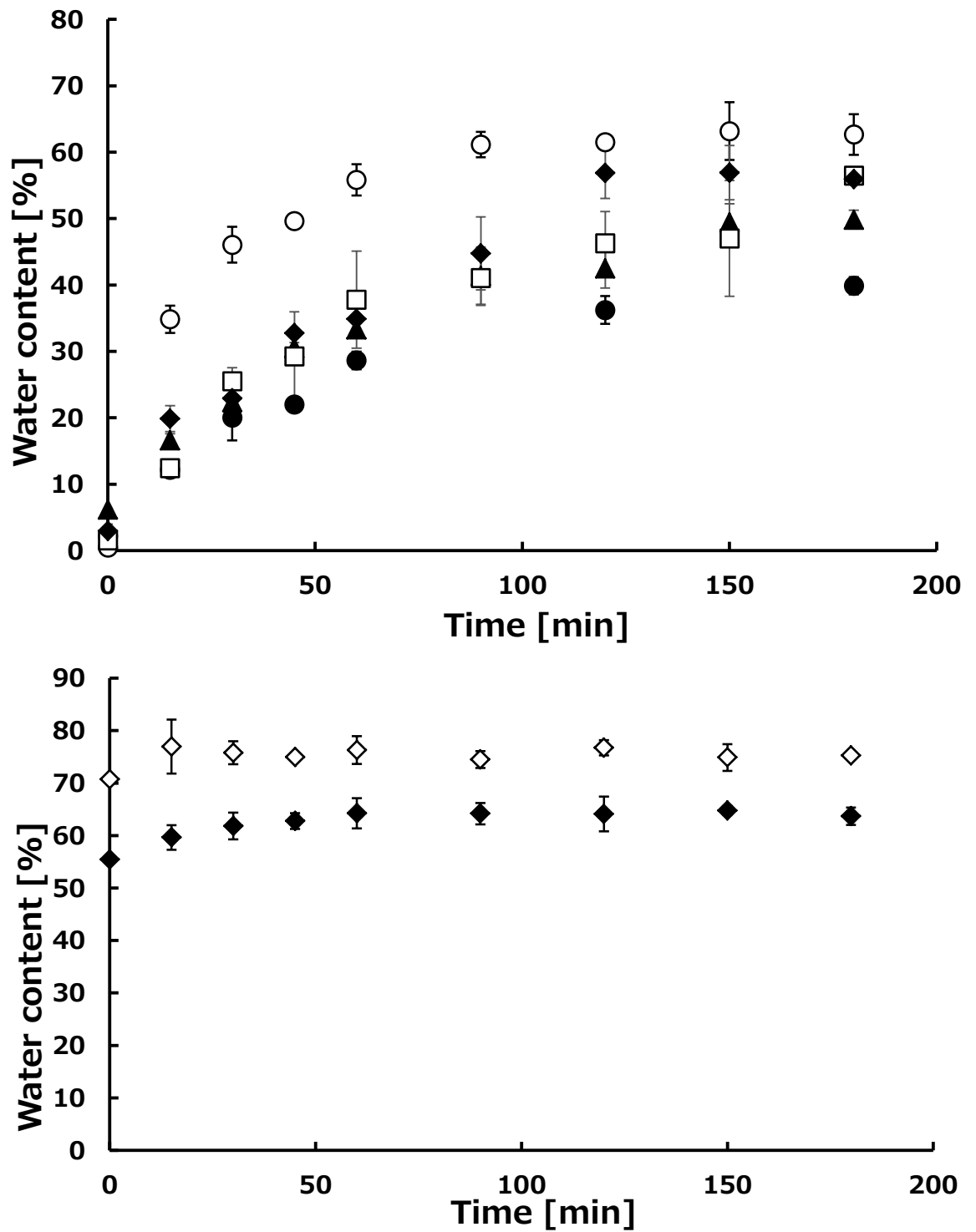


Fig. 15 Water absorption studies measured by KF method
 ● : Macrogol ointment (MGL), ○ : Actosin ointment (ACT),
 ▲ : U-pasta Kowa ointment (UPT), ■ : Cadex ointment (CDX),
 □ : Iodocoat ointment (IOD), ◆ : Geben cream (GBN),
 ◇ : Olcenon ointment (OLC)

Table 6 the slope of the rise from the start of the test to the lapse of 60 minutes and the maximum amount of water absorption at the end of the test (MAX).

Samples	Slope	MAX
MGL	0.2937	28.6
ACT	0.6666	52.1
UPT	0.4629	51.5
CDX	0.3351	37.3
IOD	0.5506	53.1

ところで、褥瘡の治療に用いられる半固形製剤の水分特性評価は様々な方法で行われている。ポビドンヨード-シュガー軟膏(ユーパスタコーワ軟膏)は、硫酸カリウム水溶液を入れたデシケーター内に作成した相対湿度 97%の環境下における質量増加を測定する方法⁵⁹⁾で、カデキシマー・ヨウ素軟膏(カデックス軟膏)は、ネットに入れた試料を試験液に浸して 24 時間放置後、沈殿物の容積を測定⁵⁷⁾することで、ヨウ素軟膏(ヨードコート軟膏)は、試料をガーゼに塗布して遠心沈殿管に入れ、精製水を加えた後、室温で 24 時間放置して、残った液量から吸水量を求める方法⁶⁰⁾で、それぞれ報告がなされている。このように各製剤は様々な方法で吸水特性が試験されているが、その方法は統一されておらず、値を比較することができない。そこで野田らは、フランチ拡散セルを用いた吸水試験法を報告している⁵⁸⁾。この方法では、フランチ拡散セルの膜上に試料を置き、セルロース膜下にリン酸緩衝液を注入して、膜を介して試料に吸水させる。その後、水位を保つために追加したリン酸緩衝液の重量から吸水量を求めることができる。この方法で求められたポビドンヨード-シュガー軟膏、カデキシマー・ヨウ素軟膏及びマクロゴール軟膏の吸水容量はそれぞれ 26 ± 2 , 76 ± 5 , 57 ± 5 %であった。この方法は、各製剤の吸水能を数値で比較することが可能であるが、吸水量を間接的に求める方法であり、製剤中の水分量を直接知ることとはできない。加えて臨床の現場で使用する製剤は多岐にわたるため、より簡便でかつ製剤中の水分を直接定量することができる手法が望まれている。ここで、本検討により得られた吸水容量は、マクロゴール軟膏、アクトシン軟膏、ユーパスタコーワ

軟膏，ヨードコート軟膏およびカデックス軟膏で，それぞれ 28.6, 52.1, 51.5, 53.1 および 37.3% であった．先の検討とは条件が異なるため，この結果を過去の試験と比較することはできないが，少なくとも各製剤間の吸水特性を相対的に評価できると考えられた．

また，吸水が認められたサンプルについて，サンプルの水分量測定を NIR 分光法に変更して試験を行った結果を Fig. 16 に示す．すべてのサンプルにおいて，時間の経過に伴う 2 次微分値の減少が認められた．これを Fig. 8 に示した回帰直線を用いて水分含量に変換すると，KF 法による吸水試験と類似した曲線が得られた (Fig. 17)．

NIR 分光法で得られたスペクトルは測定水分の電解質濃度や温度に依存してシフトすることが報告されている⁷⁶⁾ため，実際の創部へ適用した半固形製剤の水分含量を測定する場合には滲出液中に含まれる体液成分や電解質等の影響を考慮する必要がある．しかしながら，NIR 分光測定を用いれば，KF 法との比較では，より迅速にサンプルの吸水量を評価できることが示唆された．

これらの結果から，Transwell[®]を用いた吸水試験を行い，KF 法または NIR 分光法により測定してその値を比較することで，製剤が持つ吸水特性を評価することが可能であった．さらに本法は他の製剤にも応用が可能であり，あらゆる製剤の吸水特性を評価できると考えられ，それらのデータは，臨床現場における薬剤選択の場面において非常に重要なエビデンスになると期待される．

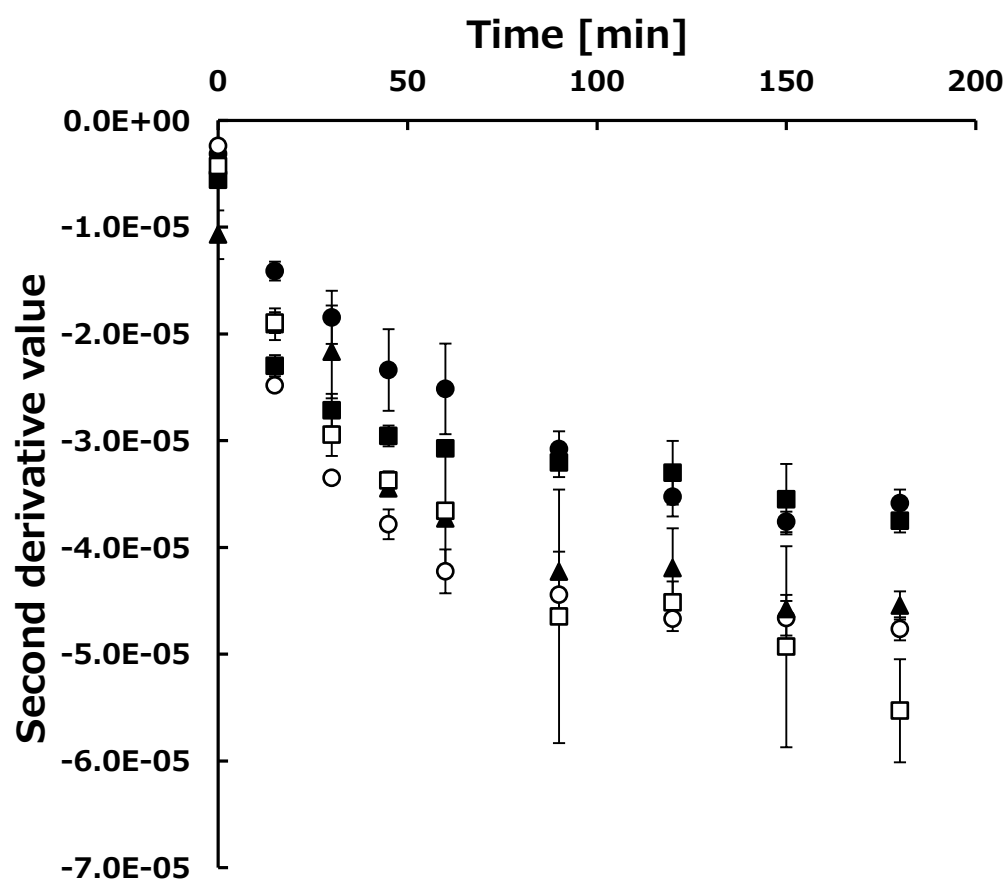


Fig. 16 Water absorption studies measured by NIRS.
 ● shows MGL, ○ shows ACT, ▲ shows UPT, ■ shows CDX,
 □ shows IOD.

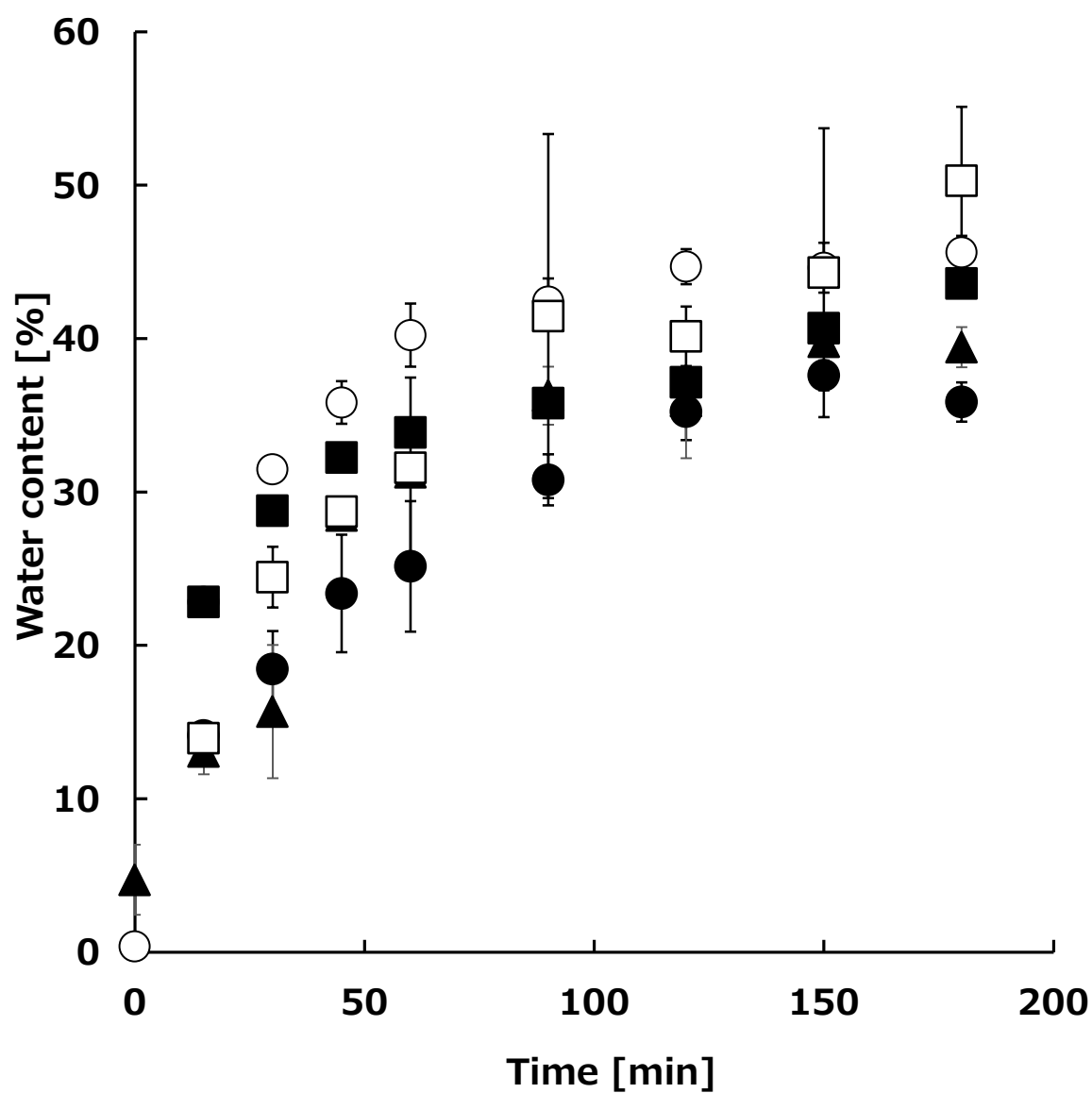


Fig. 17 Water absorption studies measured by NIRS (converted by using regression line). ● : MGL, ○ : ACT, ▲ : UPT, ■ : CDX, □ : IOD

2. 4. 結 論

本研究により，半固形製剤の直接水分定量法及び吸水特性評価法が確立された．カールフィッシャー法を用いることにより，基剤のような単純な組成の製剤だけでなく，市販製剤のような混合物においても，水分含量の測定が可能であることが示唆された．また，NIR 分光法を用いることにより，非破壊・非接触でより簡便に測定できる可能性が示された．また，Transwell®を用いた吸水試験により各製剤の水分吸収速度や最大吸水量は，基剤の吸水能のみならず，添加物による浸透圧など様々な要因が寄与していることが明らかとなった．このことから，本法を用いて製剤の吸水特性を比較することにより，臨床の現場における，創の水分状態に応じた薬剤選択に対し，有用なエビデンスを与えることができると考えられた．

総括

本論文は、製剤化された医薬品に対するラマン分光および NIR 分光を利用した分光学的な分析の有用性評価、ならびに臨床現場における外用剤の選択のエビデンス構築を目的として、種々の薬剤学的手法により評価し、得られた知見をまとめたものである。以下に、本研究で得られた成果を述べる。

第 1 章「ケトプロフェン含有テープ製剤における主薬の分子状態に関する検討」では、主薬としてケトプロフェンを含有するテープ製剤に関して、偏光顕微鏡による観察、ラマン分光分析、PXRD 測定、溶出試験および皮膚透過性試験を行い、多角的な評価を試みた。その結果、先発品と後発品との間で、マトリックス層中のケトプロフェンの分子状態は異なっていた。これは偏光顕微鏡、ラマン分光分析および PXRD 測定により明らかとなった。先発品に関しては、マトリックス層中に主薬の結晶成分がほとんど観察されなかった。一方で、後発品 2 種類に関しては、結晶成分の析出が観察された。3 製剤で溶出プロファイルに有意な差はないにもかかわらず、皮膚透過性試験では先発品に比べ後発品がケトプロフェンの透過速度および累積透過率が低いことが明らかとなった。

第 2 章「褥瘡治療に用いられる半固形製剤の水分含量の測定および水分吸収特性の評価」では、褥瘡治療の分野で汎用される軟膏/クリーム剤に関して、カールフィッシャー法および近赤外分光法による水分含量の測定、さらに Transwell®を用いた吸水能試験を施行し、各製剤の吸水特性の評価を試みた。その結果、KF 法を用いることにより、固形製剤のみならず、軟膏のような半固形製剤にお

いても，水分含量の測定が可能であった．さらに，NIR 分光法を用いることにより，非破壊・非接触でより簡便に測定できる可能性が示された．また，Transwell[®]を用いた吸水試験では，半固形製剤の水分吸収速度や最大吸水量が測定できることが示され，かつ各製剤の吸水特性が明らかとなった．上述より，半固形製剤の直接水分定量法および吸水特性評価法が確立された．

本研究では消炎鎮痛テープ製剤の製剤間比較を行い，いくつかのデータを示した．また，半固形製剤の水分含量や水分吸収に関するデータを示した．これらのデータは，薬剤師の患者に対する服薬説明の場面または薬剤情報を提供する際の貴重な情報源となり，さらに，創の状態に応じた半固形製剤の適切な選択において，有用なエビデンスを与えることが期待される．

謝 辞

本研究の遂行ならびに本論文の作成に際して、終始御懇篤なる御指導ならびに御鞭撻を賜りました明治薬科大学分子製剤学研究室 深水 啓朗 教授に深甚なる感謝の意を表します。

本論文の作成にあたり、貴重なご助言、ご指導を賜りました明治薬科大学生体機能分析学研究室 兎川 忠靖 教授ならびに明治薬科大学医療製剤学研究室 下川 健一 准教授に深く感謝の意を表します。

本研究を行うに際して数々の有益なる御指導ならびに御助言を賜り、また、NIR 分光測定装置；Spectrum One NTS Spotlight350 (PerkinElmer)を快く提供して頂きました帝京平成大学薬学部物理薬剤学ユニット 山本 佳久 准教授に深く感謝の意を表します。

本研究を行うに際して御指導、御助言と多大なるご協力を賜りました国立医薬品食品衛生研究所薬品部 小出 達夫 主任研究官に深く感謝の意を表します。

本研究を行うに際して御助言と多大なる御協力を賜りました株式会社ミロット 吉村(藤井) 美佳 様, Tornado Spectral Systems Inc. Mark Kemper 様, Chulalongkorn University Varin Titapiwatanakun 様, 株式会社テックアナリシス 久田 浩史 様ならびに帝京平成大学薬学部物理薬剤学ユニット 山田 優 様に深く感謝の意を表します。

本研究を行うに際し、御指導ならびに御鞭撻を賜りました明治薬科大学分子製剤学研究室 井上 元基 助教ならびに大西 優 助手に深く感謝の意を表します。

本研究を行うに際し、数々の有益なる御指導ならびに御助言を賜りました日本大学薬剤学研究室 鈴木 豊史 教授ならびに鈴木 直人 助教に深く感謝の意を表します。

本研究を行うに際し、多大なる御協力を頂きました明治薬科大学分子製剤学研究室卒研究生 星野 拓也 さん，飯田 康人 さんならびに嶽本 佳菜子 さんに深く感謝の意を表します。

社会人学生として大学院に入学することをご快諾くださり，ご支援を頂きました医療法人財団明理会埼玉セントラル病院 三上 俊哉 薬剤科長ならびにご理解いただきました薬剤科の皆様にお礼を申し上げます。

最後に，大学院への進学を応援していただき，終始ご支援くださいました家族に心より感謝いたします。

参考文献

- 1) René Escobedo, René Miranda, Joel Martínez, Infrared Irradiation: Toward Green Chemistry, a Review, *Int. J. Mol. Sci.*, **17**, 453 (2016).
- 2) João Rodrigo Santos, Mafalda C. Sarraguça, António O.S.S. Rangel, João A. Lopes, Evaluation of green coffee beans quality using near infrared spectroscopy: A quantitative approach, *Food Chem.*, **135**, 1828-1835 (2012).
- 3) Chieu D. Tran, Silvia De Paoli Lacerda, Near-Infrared Spectroscopic Investigation of Inclusion Complex Formation of Cyclodextrins in Room-Temperature Ionic Liquid, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, **44**, 185-190 (2002).
- 4) Joe R. Hart, Karl H. Norris, Calvin Golumbic, Determination of the moisture content of seeds by Near-Infrared Spectrophotometry of their methanol extracts, *Cereal Chem.*, **39**, 94-99 (1961)
- 5) Gabrieli Alves de Oliveira, Sylvie Bureau, Catherine Marie-Geneviève Claire Renard, Adauto Bellarmino Pereira-Netto, Fernanda de Castilhos, Comparison of NIRS approach for prediction of internal quality traits in three fruit species, *Food Chemistry*, **143**, 223-230 (2014).
- 6) João Rodrigo Santos, Mafalda C. Sarraguça, António O.S.S. Rangel, João A. Lopes, Evaluation of green coffee beans quality using near infrared spectroscopy: A quantitative approach, *Food Chemistry*, **135**, 1828-1835 (2012).

- 7) Kawano S., Watanabe H., Iwamoto M., Determination of Sugar Content in Intact Peaches by Near Infrared Spectroscopy with Fiber Optics in Interactance Mode, J. JPN. SOC. HORTIC. SCI, **61**, 445-451 (1992).
- 8) William R. Windham, Brenda G. Lyon, Elaine T. Champagne, Franklin E. Barton II, Bill D. Webb, Anna M. McClung, Karen A. Moldenhauer, Steve Linscombe, Kent S. McKenzie, Prediction of Cooked Rice Texture Quality Using Near-Infrared Reflectance Analysis of Whole-Grain Milled Samples, Cereal Chem., **74**, 626-632 (1997).
- 9) S. Andrés, I. Murray, E. A. Navajas, A. V. Fisher, N. R. Lambe, L. Bünger, Prediction of sensory characteristics of lamb meat samples by near infrared reflectance spectroscopy, Meat Sci., **76**, 509-516 (2007).
- 10) Hasegawa T., Ozaki Y., New Development in Chemometrics, BUNSEKI KAGAKU, **54**, 1-26 (2005) (in Japanese).
- 11) Zhisheng Wu, Min Du, Bing Xu, Zhaozhou Lin, Xinyuan Shi, Yanjiang Qiao, Absorption characteristics and quantitative contribution of overtones and combination of NIR: Method development and validation, J. Mol. Struct., **1019**, 97-102 (2012).
- 12) Yves Roggo, Pascal Chaluz, Lene Maurer, Carmen Lema-Martinez, Aurélie Edmond, Nadine Jent, A review of near infrared spectroscopy and chemo metrics in pharmaceutical technologies, J. Pharm. Biomed. Anal., **44**, 683-700 (2007).

- 13) A smund Rinnan, Frans van den Berg, Søren Balling Engelsen,
Review of the most common pre-processing techniques for
near-infrared spectra, Trends. Analyt. Chem., **28**, 1201-1222
(2009).
- 14) Emilw. Ciurczak, Uses of Near-Infrared Spectroscopy in
Pharmaceutical Analysis, Appl. Spectrosc. Rev., **23**, 147-163
(1987).
- 15) R. P. Torlini, E. W. Ciurczak, Determination of Moisture in
Pharmaceutical Raw Materials via NIRA, Pittsburgh Conference on
Analytical Chemistry and Applied, (1987).
- 16) Matilda George, Near Infrared Spectroscopy: Applications In
Pharmaceutical Industry, Mapana Journal of Sciences, **17**, (2018).
- 17) Pierre-Yves Sacré, Eric Deconinck, Thomas De Beer, Patricia
Courselle, Roy Vancauwenberghe, Patrice Chiap, Jacques Crommen,
Jacques O.De Beer, Comparison and combination of spectroscopic
techniques for the detection of counterfeit medicines, J. Pharm.
Biomed. Anal., **53**, 445-453 (2010).
- 18) Anthony C. Moffat, Sulaf Assi, Robert A. Watt, Identifying
Counterfeit Medicines Using near Infrared Spectroscopy, Journal
of Near Infrared Spectroscopy, **18**, 1-15 (2010).
- 19) Janie Dubois, Jean-Claude Wolff, John K. Warrack, Joseph
Schoppelrei, E. Neil Lewis, NIR Chemical Imaging for Counterfeit
Pharmaceutical Products Analysis, Spectroscopy, **22**, 40-50 (2007).
- 20) Ishizaki T., Sasaki T., Suganuma T., Horai Y., Chiba K., Watanabe

- M., Asuke W., Hoshi H., Pharmacokinetics of ketoprofen following single oral, intramuscular and rectal doses and after repeated oral administration, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **18**, 407-414 (1980).
- 21) Kokki H., Ketoprofen Pharmacokinetics, Efficacy, and Tolerability in Pediatric Patients, *Pediatr. Drugs*, **12**, 313-329 (2010).
- 22) Shinkai N., Korenaga K., Okumura Y., Mizu H., Yamauchi H., Microdialysis assessment of percutaneous penetration of ketoprofen after transdermal administration to hairless rats and domestic pigs, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **78**, 415-421 (2011).
- 23) Shinkai N., Korenaga K., Mizu H., Yamauchi H., Intra-articular penetration of ketoprofen and analgesic effects after topical patch application in rats, *J. Control. Release*, **131**, 107-112 (2008).
- 24) Gürol Z., Hekimoğlu S., Demirdamar R., Şumnu M., Percutaneous absorption of ketoprofen. I. In vitro release and percutaneous absorption of ketoprofen from different ointment bases, *Pharm .Acta. Helv.*, **71**, 205-212 (1996).
- 25) Goosen C., du Plessis J., Müller DG., Janse van Rensburg LF., Correlation between physicochemical characteristics, pharmacokinetic properties and transdermal absorption of NSAID's, *Int. J. Pharm.*, **163**, 203-209 (1998).
- 26) Beetge E., du Plessis J., Müller DG, Goosen C., van Rensburg FJ, The influence of the physicochemical characteristics and pharmacokinetic properties of selected NSAID's on their transdermal absorption, *Int. J. Pharm.*, **193**, 261-264 (2000).

- 27) Kawai S., Uchida E., Kondo M., Ohno S., Obata J., Nawata Y., Sugimoto K., Oribe M., Nagaya I., Efficacy and Safety of Ketoprofen Patch in Patients With Rheumatoid Arthritis: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study, *J. CLIN. PHARMACOL.*, **50**, 1171-1179 (2010).
- 28) Haroutiunian S., Drennan D.A., Lipman A.G., Topical NSAID therapy for musculoskeletal pain, *Pain Med.*, **11**, 535-549 (2010).
- 29) Komatsu T., Sakurada T., Comparison of the efficacy and skin permeability of topical NSAID preparations used in Europe, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **47**, 890-895 (2012).
- 30) Cordero J.A., Alarcon L., Escribano E., Obach R., Domenech J., A Comparative Study of the Transdermal Penetration of a Series of Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs, *J. Pharm. Sci.*, **86**, 503-508 (1997).
- 31) Sekiya I., Morito T., Hara K., Yamazaki J., Ju Y.J., Yagishita K., Mochizuki Y., Tsuji K., Muneta T., Ketoprofen Absorption by Muscle and Tendon after Topical or Oral Administration in Patients Undergoing Anterior Cruciate Ligament Reconstruction, *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, **11**, 154-158 (2010).
- 32) Mazières B., Topical Ketoprofen Patch, *Drugs in R & D*, **6**, 337-344 (2005).
- 33) Kawamura N., Shinkai N., Yamauchi H., Takayama S., Comparison of poultice-type and tapetype patches containing ketoprofen on human skin irritation, *J. Toxicol. Sci.*, **28**, 415-425 (2003).

- 34) Kawamura N., Igarashi K., Kawakami J., Gotoh M., Saitoh H., Sasaki H., Shinkai N., Yamauchi H., Takayama S., Characteristics of transdermal topical delivery patch (MILTAX) containing the anti-inflammatory and analgesic drug, ketoprofen, *Drug Deliv. Syst.*, **18**, 459-470 (2003).
- 35) Adachi H., Ioppolo F., Paoloni M., Santilli V., Physical characteristics, pharmacological properties and clinical efficacy of the ketoprofen patch: a new patch formulation, *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.*, **15**, 823-830 (2011).
- 36) Saita A., Inoue A., Ishibashi H., Tominaga K., Hori S., Miki A., Ohtani H., Ono N., Sawada Y., A Questionnaire survey of patients comparing the usability of brand-name and generic ketoprofen tapes, *YAKUGAKU ZASSHI*, **128**, 795-803 (2008) (in Japanese).
- 37) Wada Y., Kihara M., Nozawa M., Shimokawa K., Ishii F., Generic Selection Criteria for Safety and Patient Benefit [IV] – Physicochemical and pharmaceutical properties of brand-name and generic ketoprofen tapes, *Drug Discov. Ther.*, **9**, 229-233 (2015).
- 38) Ohtani M., Matsumoto M., Namiki M., Yamamura Y., Sugiura M., Uchino K., Evaluation of Pharmaceutical Equivalency between Genuine and Generic Ketoprofen Tape, *Yakuzaigaku, J. Pharm. Sci. Tech. Jpn.*, **71**, 120-125 (2011) (in Japanese).
- 39) <http://www.pmda.go.jp/>.
- 40) Yokota M., Tokudome Y., Permeation of Hydrophilic Molecules across Glycated Skin Is Differentially Regulated by the Stratum

- Corneum and Epidermis-Dermis, *Biol. Pharm. Bull.*, **38**, 1383-1388 (2015).
- 41) Obata Y., Maruyama Y., Takayama K., The Mode of Promoting Activity of O-Ethylmenthol as a Transdermal Absorption Enhancer, *Pharm. Res.*, **23**, 392-400 (2006).
- 42) Matsui R., Uchida S., Namiki N., In vitro and in Vivo Evaluation under Finite Conditions of a Transdermal Oil-in-Water Type Emulsified Formulation of Propiverine Hydrochloride, *Biol. Pharm. Bull.*, **37**, 1661-1667 (2014).
- 43) Özlü C., Basan H., Şatana E., Ertaş N., Göğür N.G., Quantitative determination of ketoprofen in gels and ampules by using flow-injection UV spectrophotometry and HPLC, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **39**, 606-611 (2005).
- 44) Flach C.R., Moore D.J., Infrared and Raman imaging spectroscopy of ex vivo skin, *Int. J. Cosmet. Sci.*, **35**, 125-135 (2013).
- 45) Liu C., Hui M., Quan P., Fang L., Drug in adhesive patch of palonosetron: Effect of pressure sensitive adhesive on drug skin permeation and in vitro-in vivo correlation, *Int. J. Pharm.*, **511**, 1088-1097 (2016).
- 46) Liu C., Quan P., Fang L., Effect of drug physicochemical properties on drug release and their relationship with drug skin permeation behaviors in hydroxyl pressure sensitive adhesive, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **96**, 437-446 (2016).
- 47) Inoue K., Sugibayashi K., In vivo enhancement of transdermal

- absorption of ketotifen by supersaturation generated by amorphous form of the drug, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **47**, 228-234 (2012).
- 48) Marsac P.J., Li T., Taylor L.S., Estimation of Drug–Polymer Miscibility and Solubility in Amorphous Solid Dispersions Using Experimentally Determined Interaction Parameters, *Pharm. Res.*, **26**, 139-151 (2008).
- 49) Rumondor A.C.F., Stanford L.A., Taylor L.S., Effects of Polymer Type and Storage Relative Humidity on the Kinetics of Felodipine Crystallization from Amorphous Solid Dispersions, *Pharm. Res.*, **26**, 2599-2606 (2009).
- 50) Wu P.C., Chang J.S., Huang Y.B., Chai C.Y., Tsai Y.H., Evaluation of percutaneous absorption and skin irritation of ketoprofen through rat skin: in vitro and in vivo study, *Int. J. Pharm.*, **222**, 225-235 (2001).
- 51) Simon A., Amaro M.I., Healy A.M., Cabral L.M., Sousa V.P., Development of a Discriminative In Vitro Release Test for Rivastigmine Transdermal Patches Using Pharmacopeial Apparatuses: USP 5 and USP 6, *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, **18**, 2561-2569 (2017).
- 52) Panchaxari D.M., Pampana S., Pal T., Devabhaktuni B., Aravapalli A.K., Design and Characterization of Diclofenac Diethylamine Transdermal Patch Using Silicone and Acrylic Adhesives Combination, *DARU J. Pharm. Sci.*, **21** (2013).
- 53) Sanada H., Iizaka S., Matsui Y., Furue M., Tachibana T., Nakayama

- T., Sugama J., Furuta K., Tachi M., Tokunaga K., Miyachi Y.,
Clinical wound assessment using DESIGN-R total score can predict
pressure ulcer healing: Pooled analysis from two multicenter
cohort studies, *Wound Repair Regen.*, **19**, 559-567 (2011).
- 54) Whitney J., Phillips L., Aslam R., Barbul A., Gottrup F., Gould L.,
Robson M.C., Rodeheaver G., Thomas D., Stotts N., Guidelines for
the treatment of pressure ulcers, *Wound Repair Regen.*, **14**,
663-679 (2006).
- 55) Okan D., Woo K., Ayello E.A., Sibbald G., The Role of Moisture
Balance in Wound Healing, *Adv. Skin. Wound Care*, **20**, 39-53
(2007).
- 56) Brem H., Lyder C., Protocol for the successful treatment of
pressure ulcers, *Am. J. Surg.*, **188**, 9-17 (2004).
- 57) Kaneko T., Matsumoto K., Furuya Y., Satake M., Ishikura F., Study
of cadex ointment 0.9% on physical specificity and the
compatibility, *Jpn. Pharmacol. Ther.*, **29**, 603-610 (2001).
- 58) Noda Y., Fujii K., Fujii S., Critical evaluation of cadexomer-iodine
ointment and povidone-iodine sugar ointment, *Int. J. Pharm.*, **372**,
85-90 (2009).
- 59) Takayama K., The examination of related characteristics of
povidone-iodine sugar ointment, *Jpn. J. Med. Pharm. Sci.*, **43**,
91-96 (2000).
- 60) Hikake S., Kobayashi K., Miwa Y., Hamamoto H., Yamasaki K.,
Development and Formulation Characteristics of an Ointment for

- Skin Ulcers Including Pressure Ulcers, MRX-201 (Iodocoat Ointment 0.9 %), Journal of Pharmaceutical Science and Technology, Japan, **67**, 260-265 (2007) (in Japanese).
- 61) Kauppinen A., Toiviainen M., Korhonen O., Aaltonen J., Järvinen K., Paaso J., Juuti M., Ketolainen J., In-Line Multipoint Near-Infrared Spectroscopy for Moisture Content Quantification during Freeze-Drying, Anal. Chem., **85**, 2377-2384 (2013).
- 62) Rantanen, J., Lehtola S., Rämetsä P., Mannermaa J.P., Yliruusi J., On-line monitoring of moisture content in an instrumented fluidized bed granulator with a multi-channel NIR moisture sensor, Powder Technol., **99**, 163-170 (1998).
- 63) Rantanen J., Räsänen E., Tenhunen J., Käsäkoski M., Mannermaa J.P., Yliruusi J., In-line moisture measurement during granulation with a four-wavelength near infrared sensor: an evaluation of particle size and binder effects, Eur. J. Pharm. Biopharm., **50**, 271-276 (2000).
- 64) Xie Y., Song Y., Zhang Y., Zhao B., Near-infrared spectroscopy quantitative determination of Pefloxacin mesylate concentration in pharmaceuticals by using partial least squares and principal component regression multivariate calibration, Spectrochim. Acta. A Mol. Biomol. Spectrosc., **75**, 1535-1539 (2010).
- 65) Miwa A., Makado K., A method for predicting the amount of water required for wet granulation using NIR, Int. J. Pharm., **376**, 41-45 (2009).

- 66) Shikata F., Kimura S., Hattori Y., Otsuka M., Application of near-infrared spectroscopy to optimize dissolution profiles of tablets according to the granulation mechanism, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **44**, 713-722 (2018).
- 67) Moncada G.W., González Martín M.I., Escuredo O., Fischer S., Míguez M., Multivariate calibration by near infrared spectroscopy for the determination of the vitamin E and the antioxidant properties of quinoa, *Talanta*, **116**, 65-70 (2013).
- 68) Vo A.Q., He H., Zhang J., Martin S., Chen R., Repka M.A., Application of FT-NIR Analysis for In-line and Real-Time Monitoring of Pharmaceutical Hot Melt Extrusion: a Technical Note, *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, **19**, 3425-3429 (2018).
- 69) De Beer T., Burggraeve A., Fonteyne M., Saerens L., Remon J.P., Vervaet C., Near infrared and Raman spectroscopy for the in-process monitoring of pharmaceutical production processes, *Int. J. Pharm.*, **417**, 32-47 (2011).
- 70) Schwanninger M., Rodrigues J.C., Fackler K., A Review of Band Assignments in near Infrared Spectra of Wood and Wood Components, *J. Near Infrared Spectrosc.*, **19**, 287-308 (2011).
- 71) Rébufa C., Pany I., Bombarda I., NIR spectroscopy for the quality control of *Moringa oleifera* (Lam.) leaf powders: Prediction of minerals, protein and moisture contents, *Food Chem.*, **261**, 311-321 (2018).
- 72) Frizon C.N.T., Dagostin J.L.A., Nisgoski S., Ribani M.,

- Hoffmann-Ribani R., Microwave drying and NIR spectroscopy for the rapid moisture measurement of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) leaves during storage, *Int. J. Food Prop.*, **20**, 1403-1412 (2017).
- 73) Mireei S.A., Mohtasebi S.S., Massudi R., Rafiee S., Arabanian A., Berardinelli A., Non-destructive Measurement of Moisture and Soluble Solids Content of Mazafati Date Fruit by NIR Spectroscopy, *Aust. J. Crop. Sci.*, **4**, 175-179 (2010).
- 74) Sinsheimer J.E., Poswalk N.M., Pharmaceutical Applications of the Near Infrared Determination of Water, *J. Pharm. Sci.*, **57**, 2007-2010 (1968).
- 75) Yamamoto Y., Fukami T., Onuki Y., Metori K., Suzuki T., Koide T., Comparison of pharmaceutical properties among clobetasol propionate cream formulations: Considerations from near infrared spectra, *Vib. Spectrosc.*, **93**, 17-22 (2017).
- 76) W. Scott Pegau, Deric Gray, J. Ronald V. Zaneveld, Absorption and attenuation of visible and near-infrared light in water: dependence on temperature and salinity, *J. Opt. Soc. Am.*, **36**, 6035-6046 (1997).

論文目録

本学位論文の内容は，下記の論文発表による。

- 1) Motoshige Azuma, Mika Fujii, Motoki Inoue, Hiroshi Hisada, Tatsuo Koide, Mark Kemper, Yoshihisa Yamamoto, Naoto Suzuki, Toyofumi Suzuki, Toshiro Fukami; Molecular State of Active Pharmaceutical Ingredients in Ketoprofen Dermal Patches Characterized by Pharmaceutical Evaluation; Biol. Pharm. Bull., **41**, 1348-1354 (2018).

- 2) Takuya Hoshino, Motoshige Azuma, Yuki Yamada, Varin Titapiwatanakun, Mika Fujii, Yoshihisa Yamamoto, Tatsuo Koide, Toshiro Fukami; Measurement of water-content in semi-solid formulations used for treatment of pressure ulcer and evaluation of water-absorption characteristics; Chem. Pharm. Bull., in press