

安定性モニタリングで*不溶性異物／*不溶性微粒子試験不適合をなくすための取り組み

脇坂 盛雄 (株) ミノファージェン製薬 顧問

筆者は日本薬局方の注射剤の製剤総則に注射剤の不溶性異物試験と不溶性微粒子試験が追記される前から注射剤の異物試験方法検討と異物低減を3年間専任で行った。

試験方法を確立し、注射剤を評価したところ、ほとんどの注射剤に異物問題があることがわかり、製造工程のメンバーと一緒に異物削減の改善に取り組んだ。アンプル製剤（溶液、凍結乾燥）、バイアル製剤（凍結乾燥、粉末充填）、輸液がそれぞれ剤型ならびに製造方法による異物問題を抱えていた。

その後、海外から注射剤を輸入する時、海外で製造する注射剤は100%異物問題を抱えていて、その改善も行った。

1 不溶性異物の安定性モニタリングの注意点

(1) 設計時

不溶性異物の日本薬局方の試験は人が見る試験である。たやすく／明らかに認める異物は認めないとなっている。この大きさがいくらかは規定されていない。各社で規定することになる。人が行う試験であり、官能検査になる。注射剤の不溶性異物試験は人によるバラツキが大きく、十分なトレーニングを行いつつ認定制度を導入しないと、信頼できない試験になる。官能検査は試験のバリデーションがまさに人の認定になる。

治験薬の注射剤の不溶性異物検査員を生産の認定基準で判定したところ、全員が認定されなかった。認定基準に合格するまで訓練を行った。訓練を行う前の治験薬の検査員が全数選別した海外の注射剤の異物不良率は20%であったが、それを生産の基準で行うと50%の不

良率であった。異物不良率を適切に判断する場合、認定されているか、どのような認定基準で行われているかを確認しないと、その不良率は不確かな結果になる。

製造時の異物の多くは設計由来よりも製造由来の異物である。設計由来と思われる安定試験での不溶性異物には下記があるのでその観点での確認が必要になる。

- ① 処方による異物
- ② ガラス容器と処方由来によるフレークス
- ③ 類縁物質、不純物などが反応し、不溶性異物を形成する異物

(2) 製造時

製造時においても、不溶性異物試験の検査者の認定は重要な課題になる。認定を行ったところ、ある検査者(A)は50～80 μm の異物が含まれているアンプルを50%異物ありと指摘し、異物のないアンプルを50%異物ありと指摘していた。 α の誤りが50%であり、 β の誤りも50%だったことになる。この検査者は異物がまったく見えていないことになる。気泡を白ごみと区別することができていなかった。かつ50～80 μm の異物は見えていなかった。

認定用サンプルに30 μm の白異物を入れておいた。ある検査員(B)は2回ともこの30 μm の異物を検出した。かつ良品は100%異物なしと正しく(α の誤り0%)判定していた。

検査者AもBも当時の注射剤の不溶性異物試験を行っている検査員であった。認定することで初めて違いがよくわかった。このように注射剤の不溶性異物試験は検査者によって大きく左右される試験方法である。そのため、訓練を良く行い、認定することが重要になる。

不溶性異物は製造で異物を管理する必要がある。異

物混入原因を調査して対策することである。異物検査は100%の検査ではないため、どうしても見逃しが生じる。そのため、最初の母不良率が大きいと残存不良率も大きいことになる。

全数検査 1 回後の残存不良率

母不良率	検出率 80% の場合	検出率 60% の場合
1%	0.2%	0.4%
2%	0.4%	0.8%
4%	0.8%	1.6%
8%	1.6%	3.2%

よって、不良率が通常より高い場合は、残存不良率も高い。参考品として保管している良品の中に不溶性異物を見逃している場合がある。不溶性異物の苦情が来て、参考品に問題ないか確認（製品回収の通知で定められている）する。運悪く見逃した不溶性異物の異物が見つかり、参考品にもあったことになり、製品回収のリスクが高まる。そのためにも、良品中の不溶性異物の不良率をある一定以下にしておく努力が必要になる。例えば、不溶性異物の不良率が通常より高い場合は、再度全数検査をすることを SOP で規定しておくなどして良品中の、異物が含まれている不良品を減らすことである。

(3) 経年時

設計時の経年で発生する不溶性異物の検証を十分行っていると、経年で不溶性異物が新たに析出するリスクは低い。生産に移行した後で問題になるのは、変更時の評価で経年による不溶性異物の確認が不十分な場合である。実際に起きたケースを紹介する。このケースは原薬の出発物質を変更したことにより経年で不溶性異物が発生した。

① 不純物パターンの変化

原薬の銘柄追加や製造方法変更時は、不純物プロファイル（新規不純物や既知不純物増減）を確認する。ICH の基準では 1 日投与量によっても限度が異なるが、一般には 0.10% の新規不純物があるかを確認する。このケースは 0.01% の新規不純物が経年（1～2 年前後）で不溶性異物になった。

② 製造時は問題なく、経年で問題に

出発物質を変更したために新規の不純物があった。0.01% の新規不純物は水に溶けにくい物質であった。しかし、原薬の量と注射剤の溶液量の関係で、この不純物は製造時には溶けていた濃度だった。よって、製造時には不溶性異物で問題にならなかった。ところが、経年（1 年以降）でこの不純物が徐々に反応して 2 量体になった。この 2 量体はさらに水に溶け難い物質だったので、2 量体が不溶性異物として析出した。

③ 新規不純物と 2 量体の同定

経年で析出した異物を同定するにはある程度の量が必要になる。アンプル内の異物を集めることはかなり大変なので、原薬から来ているのではないかと推論した。原薬を HPLC で評価すると新規不純物があったので、それを分取して同定した。その不純物が当初原因と推定した。しかし、経年で異物が増えるとの説明が弱いため疑問が残った。経年で析出した異物を取り出し IR を測定したところ、原薬から分取し同定したものと微妙に IR の指紋領域が異なっていた。そこで、アンプル内に析出した異物を集め、再度構造決定したところ、原薬から分取した新規不純物の 2 量体だった。経年で新規不純物が 2 量体に化学変化を起こしていた。

④ 当初同定を間違えた理由

原薬から分取した不純物とアンプル内に析出した異物が、一致しているかの確認の抑えが抜けていた。つまり、PDCA の Check の確認を怠っていた。

⑤ 問題を防ぐには

注射剤の原薬の銘柄追加や製造方法変更時は、安定性試験（加速、冷所、サイクル試験&長期）をできるだけ行うことが防止策になる。安定性試験の結果が出てから変更が望ましいが、それができない時は加速の 3 か月（45℃の過酷追加、冷所など追加）で評価することもある。

2 不溶性微粒子の安定性モニタリングでの注意点

(1) 設計時

① フレークス

フレークスは容器の材質にガラスを使っている限り必ず付きまとう課題である。経年によりフレークスが発生する。フレークスは、ガラスの表面が浸食され、ガラス表面が薄く剥離したもので、溶液に出て光の関係でキラキラと光る。溶液のpHが高いとガラス表面の浸食が早く進み、フレークスが発生しやすい。水だけを充填した溶解液でも、フレークスが発生することがある。バイアル瓶／アンプルの成形温度によって生じることがわかっている。

バイアル瓶／アンプルを成形している硝子会社での加工温度に依存する。昔は、硝子会社は生産スピードを考え、1,500℃前後で成形していた。Naの蒸発温度が1,400℃前後であるため、硝子に含まれているNaが蒸発し、直ぐに冷却しガラス内面に付着する。高温で成形されたバイアル瓶／アンプルは低温で成形されたものよりも、表面のNaが多いため、溶液のpHが高くなる。また、硝子の成分のNaだけが蒸発で飛ぶことにより、硝子の組成に変化が生じ、浸食されやすくなっている。成形する時の温度コントロール(1,400℃以下)が重要になる。

経年でのフレークス発生を確認を目視検査で行うには、観察者にフレークスを事前によく説明し、フレークスの見本を見せて確認してもらうことが必要になる。何も指示をせずに観察すると見逃すことがある。フレークスは日本のガラスメーカーでは低温加工しており問題がないが、海外のガラスメーカーでは要注意であり、また注射剤のpHや添加剤の種類により、フレークスに注意が必要になる。

リン酸塩を含む溶液の場合、フレークスが発生しやすい。リン酸塩はガラスの成分と反応して不溶性の塩を作り易く、リン酸塩が溶液に入っている時は注意が必要である。成分の安定性に影響しないなら他の塩に変更することがリスク低減になる。あるいは容器の材質をガラス以外、あるいはガラス表面に特殊なコーティングしている資材を選択することになる。

② 処方成分の添加剤の不純物が影響

注射剤の異物には、目視で見える異物を対象とした“不溶性異物試験”と小さな微粒子を対象とした“不溶性微粒子試験”の二つがある。日本で問題になるのは不溶性異物で、それによる製品の回収が時々ある。不溶性微粒子でもユーザーから指摘があったケースを紹介する。

九州の大学病院の薬剤部の先生が、注射剤を10mmほどのメンブランフィルターでろ過する試験方法を実施されていた。それで行ったところ、多くの微粒子が捕集されたため、その大学病院と関連病院に新製品が納入されなかった。

その試験はその薬剤部だけで行われている試験で、そのような問題点は把握していなかった。すぐに、薬剤部を訪問し、試験方法を見せてもらい、追試を行った。同じようにフィルター上に多くの微粒子が捕集され、フィルターの色が灰色に変わった。顕微鏡で見ると多くの微粒子が捕集されていた。

製剤は無菌粉末充填製剤で、処方では原薬と添加剤(アルギニン)の2種だけの注射剤であった。そこで、海外の製造所を訪問して原因究明を行った。無菌原料は、それぞれを別々に溶解し、無菌ろ過後、水分を飛ばして得る。それを無菌環境／操作により、計量、仕込み、混合、バイアル瓶に無菌充填する。それぞれの無菌原料をサンプリングして別々に溶解後してフィルターを通したが、フィルター上に残る異物はなかった。ところが、混合して溶解したものをフィルターにろ過すると同様にフィルター上に異物が捕集された。この時点では製造段階からの混入の可能性は否定できなかった。

そこで試験室で受入れ試験で使った原薬を溶解しフィルターを通して水を飛ばした(異物を除去した)。同様にアルギニンについても行った。異物を除去した原薬とアルギニンを混合、溶解し、フィルターを通すと同じようにフィルター上に多くの異物が捕集された。このことから製造工程からの混入は否定された。

何故、異物のない原薬とアルギニンを混ぜて異物が生じるのか?原因がわからないが、一つ思いついたのが、原薬は酸性、アルギニンは塩基性アミノ酸なので、

個々の原料をフィルターで無菌にした時と混合した時の pH が異なっていることが、何か問題を起こしている原因かもしれない。「仮説」pH が異なったことで、異物が出た」だった。そこで、アルギニン溶解液をろ過して水を飛ばして異物がないアルギニンを得た。それをもう一度溶かして、薄めた塩酸で pH を原薬を混合した時と同じにして、フィルターを通した。フィルター上には同じような異物が多く残っていた。同じことを、原薬で行った（水酸化ナトリウム溶液で pH 調整）が、フィルター上には異物は残らなかった。アルギニンに pH が異なると析出する異物（不純物？）があったことがわかった。

偶然、アルギニンには、2社の銘柄があった。さっそく、2社の銘柄を確認したところ、異物が出たのは1社だけだった。もう一つのアルギニンには出なかった。異物が出た銘柄がコストも安く多く使われていた。改善と歯止めとして、異物が出ない銘柄に限定した。原因究明が改善と歯止めにも繋がった。

いろいろな情報を集め、考え、仮説を立てる。その仮説が正しいかどうかを検証する。上手く行かない場合は、仮説が違っていることになり再度仮説を立てて行う。「仮説思考」内田和成著 この本は仮説を立てて仕事を進めることが問題解決を早めることを紹介している。

(2) 製造時

小さな異物が凝集することがあるため、不溶性微粒子が通常の範囲内であることをモニターしておくことが必要になる。

(3) 経年時

① アミノ酸輸液の経年品で微粒子が増加

バイアル観察機（下から1～2万Luxの光、高速回転）を用いて、アミノ酸輸液を目視観察したところ、下に溜まっていた微粒子が竜巻のように舞い上がった。チンダル現象（微小なものの光の散乱）により見えた。拡散するとバイアル観察機を用いても見えなくなった。バイアル観察機を用いないと目視ではこの竜巻現象を見ることはできなかった。顕微鏡法でろ過すると数 μm 以下の小さな微粒子であった。製造時にはなく、経年で増加していた。微粒子は有機物で、アミ

ノ酸原料に含まれている不純物が経年で析出物になったのではないかと推論した。

不純物であればフィルターの種類を変えることで除けないか検討した。ろ過は二段フィルターであり、一段目のフィルターを幾つか種類の違うものに変更して検討したところ、ゼータ電位による吸着作用のあるフィルターを使ったところ、微粒子の経年での増加は抑えられた。

注射剤の経年での異物増加は設計時と変更時の確認が重要になる。無機質な原料では問題が少ないが有機化合物は思いもかけない不純物などがあるため、事前に予測することは難しい。そのため、そのリスクが考えられる場合は実験室レベルでも良いので、試作して安定性試験（加速、苛酷、サイクル、長期など）を実施することである。