

博士論文

アムロジピン口腔内崩壊錠における
味マスキング効果評価法の開発

本論文は静岡県立大学大学院薬食生命科学総合学府博士論文である

2018年9月

静岡県立大学大学院 薬食生命科学総合学府 薬科学専攻

博士後期課程 実践薬学講座

片山 剛

**Evaluation method for taste-masking efficiency
of amlodipine orally disintegrating tablet**

September 2018

Tsuyoshi Katayama

略語表

本論文中に用いた略号及び略記号は以下の通りである。

CHEMFET	Chemical field effect transistor (化学的電界効果トランジスタ)
EMA	European medicines agency (欧州医薬品庁)
EMA	European agency for the evaluation of medicinal products (欧州医薬品審査庁)
FDA	Food and drug administration (アメリカ食品医薬品局)
HPLC	High performance liquid chromatography (高速液体クロマトグラフィー)
ICH	International council for harmonization of technical requirements for pharmaceuticals for human use (医薬品規制調和国際会議)
MAE	Mean absolute error (平均絶対誤差)
MPE	Mean prediction error (平均予測誤差)
ODT	Orally disintegrating tablet (口腔内崩壊錠)
PCA	Principal component analysis (主成分分析)
PMDA	Pharmaceuticals and medical devices agency (医薬品医療機器総合機構)
PLS	Partial least squares (部分最小二乗法)
RMSE	Root mean squared error (平均二乗誤差平方根)
SD	Standard deviation (標準偏差)
VAS	Visual analogue scale (視覚的評価スケール)
VAS _{pred}	Predicted visual analogue scale (予測された視覚的評価スケール)
VAS _{clin}	Clinical visual analogue scale (臨床試験での視覚的評価スケール)

目次

緒論	1
第 1 章 ヒト口腔内を想定したアムロジピン口腔内崩壊錠の溶出試験法の検討	4
第 1 節 緒言	4
第 2 節 実験方法	5
1-2-1. 試料	5
1-2-2. アムロジピン ODT の製造方法	5
1-2-3. アムロジピン ODT の製剤物性評価	5
1-2-3-1. 錠剤硬度	5
1-2-3-2. 客観的崩壊時間	5
1-2-3-3. 溶出試験	6
1-2-4. 健康成人における <i>in vivo</i> 口腔内溶出試験	6
1-2-4-1. 対象	6
1-2-4-2. 試験方法	6
1-2-5. <i>In vitro</i> 溶出試験	7
1-2-5-1. トリコープテスト法	7
1-2-5-2. 攪拌法	8
1-2-5-3. 注射筒正倒立法	8
1-2-5-4. パドル法	8
1-2-5-5. 振盪法	8
1-2-6. HPLC による測定	8
1-2-7. データ解析	9
1-2-7-1. <i>In vivo</i> - <i>in vitro</i> 溶出量の間における差の評価	9
1-2-7-2. 統計解析	9
第 3 節 実験結果	10
1-3-1. アムロジピン ODT の製剤物性	10
1-3-2. ヒト口腔内溶出試験における薬物溶出結果	11
1-3-3. <i>In vitro</i> 溶出試験による薬物溶出結果	12
1-3-4. <i>In vivo</i> - <i>in vitro</i> 溶出量の一致性	13
第 4 節 考察	15
第 2 章 アムロジピン口腔内崩壊錠の味マスキング効果を評価する電子味覚システムの分析性能評価	17
第 1 節 緒言	17
第 2 節 実験方法	18
2-2-1. 試料	18

2-2-2.	マトリクス溶液の調製	18
2-2-3.	分析性能検証用サンプルの調製	18
2-2-4.	HPLC による測定条件	18
2-2-5.	電子味覚システムによる測定法	18
2-2-6.	ユークリッド距離の算出と解析方法	19
2-2-7.	電子味覚システムの分析性能の検証	20
2-2-7-1.	直線性.....	20
2-2-7-2.	真度および精度	20
2-2-8.	統計解析.....	22
第3節	実験結果.....	23
2-3-1.	直線性.....	23
2-3-2.	真度および精度	27
第4節	考察.....	28
第3章	味マスキング効果評価法によるアムロジピン口腔内崩壊錠の服用性評価	30
第1節	緒言	30
第2節	実験方法.....	31
3-2-1.	試料	31
3-2-2.	異なる味マスキング効果を有するアムロジピン ODT の製造方法.....	31
3-2-3.	健康成人による味覚官能試験.....	32
3-2-3-1.	対象	32
3-2-3-2.	試験方法.....	32
3-2-4.	電子味覚システムによる測定と評価	33
3-2-4-1.	トリコープテスト法による検体調製	33
3-2-4-2.	電子味覚システムによる測定法	34
3-2-5.	服用感予測モデル式とその妥当性の検証.....	34
3-2-5-1.	センサー応答値ならびにユークリッド距離解析による服用感予測モデル式	34
3-2-5-2.	PLS 解析による服用感予測モデル式	35
3-2-5-3.	服用感予測モデル式の妥当性検証方法	36
3-2-6.	電子味覚システムによる服用感の予測	36
3-2-7.	統計解析.....	36
第3節	実験結果.....	37
3-3-1.	VAS によるアムロジピン ODT の服用性評価.....	37
3-3-2.	センサー応答値とユークリッド距離解析での評価	39
3-3-3.	センサー応答値およびユークリッド距離と味覚官能試験による VAS 値との比較.....	41
3-3-4.	PLS 解析より得られた服用感予測モデル式	42

3-3-5. 服用感予測モデル式の妥当性検証	43
3-3-6. 服用感予測モデル式を用いた服用感予測結果	44
第4節 考察	46
総括	48
謝辞	50
参考文献.....	51

緒論

口腔内崩壊錠 (Orally disintegrating tablet, ODT) は、1980 年代後半より積極的に開発され^{1,2)}、日本国内では 1990 年代後半にファモチジン OD 錠が ODT として初の承認を受けて以来、これまでに多くの製品が上市されてきた²⁾。ODT は口腔内において水無しで速やかに崩壊する特徴を有しており、アメリカ食品医薬品局 (Food and drug administration, FDA) のガイダンスでは、ODT に求められる崩壊時間は 30 秒以内と推奨されている³⁾。また、高血圧症⁴⁾、アルツハイマー病^{5,6)}、パーキンソン病⁶⁾、ならびに糖尿病⁷⁾等の疾患や加齢に伴う嚥下困難な患者が水無しで服用できることから、服薬アドヒアランス向上につながるということが報告されている⁸⁾。近年では小児用医薬品への ODT の適用についても注目され、服用性や用量調整の観点より小児用医薬品の剤形として ODT が望まれるという報告や⁹⁻¹¹⁾、小児における用量調整が可能な錠剤径 1.5-4 mm のマイクロ OD 錠に関する報告もされている¹²⁾。

このような背景の中、小児から高齢者による服用を考慮したユニバーサルデザインを取り入れた ODT の開発も行われ¹³⁾、幅広い年代で ODT が好ましい剤形であるという報告¹⁴⁾もあることから、今後医薬品の中における ODT の立ち位置がさらに重要になってくると思われる。各製薬企業においては、様々な製剤技術を駆使することで高機能な ODT を生み出しており¹⁵⁾、東和薬品株式会社では様々な薬物の ODT を製造することが可能な RACTAB 技術を開発した^{16, 17)}。RACTAB 技術は、薬物のみ、あるいは薬物に対して味マスキングや遮光を目的としたコーティング等を施し製造した機能性薬物粒子に対し、速やかな崩壊性と錠剤強度を付与することができる独自開発された速崩壊性粒子を混合し、乾式加圧成形によって打錠するという汎用性の高い ODT 製造技術となっている。このような技術を用いて開発された ODT は、重要な製剤特性の 1 つである速やかな崩壊性を評価するために、口腔内における崩壊時間を模倣する各種 *in vitro* での崩壊試験方法を検討し、それを実施している¹⁸⁻²⁶⁾。

ODT は様々な有用性を有する一方で、不快な味を伴う薬物を含有する ODT は、服用時に口腔内でその一部が溶出し、その際に発生する不快味が要因となって服薬アドヒアランスを著しく低下させることが懸念される。そのため、速やかな崩壊特性を有していたとしても、薬物に由来する不快味の影響を抑えることができなければ製品としての価値が著しく低下するため、服用性の観点より種々の方法にて薬物に対して味マスキング処理が施される。その方法として、薬物を水不溶性高分子等でコーティングする物理的マスキング法^{18, 27-30)}、甘味剤や矯味剤を添加する官能的マスキング法³¹⁻³³⁾、およびシクロデキストリンにより包接する等の化学的マスキング法^{31, 33-35)}が挙げられる。これらの中でもコーティングによる物理的マスキング法は、他の手法と比較して味マスキングの効果が高く、汎用性もあるという点から製薬企業において多くの ODT に採用される製剤技術となっている。

物理的マスキングは、体内における薬物吸収を考慮しながらも、ODT 服用時の口腔内における薬物溶出量が不快な味と感知される閾値量以下とすることを目標に実施される必要がある³⁶⁻³⁹⁾。そのため、味マスキングの効果を評価する観点から、口腔内薬物溶出量を測定することは極めて重要であると考えられ、これまでに口腔内薬物溶出量を *in vitro* にて評価するために種々の方法が考案されている³⁶⁻⁴⁴⁾。これらの試験は、ヒトの口腔内における薬物溶出量

と一致することが望ましいと考えられるが、いずれの手法においても一致性について検証されていないのが現状である。さらに、薬物溶出の測定は物理的マスキングの効果を評価することに適しているが、甘味剤をはじめとして味に影響を与える他成分が含まれている場合、味に関わる全成分の影響を反映できる方法で評価することが求められる。その場合、味評価のためにヒトによる官能試験を実施することも考えられるが、すべてのODTで行うことは被験者の負担も多く望ましくはない。特に、安全性や毒性が未知の薬物を含むODTに対して実施することは、倫理的な観点から避ける必要があると考えられる。昨今、ラットを用いた味覚評価試験の実施報告もあるが⁴⁵⁾、製薬企業における開発を考えた場合、試行錯誤しながら多くの検討検体を測定することが想定されるため、評価効率と試験に要する費用の面を考慮すると、ラットによる試験も汎用的ではないと考えられる。以上のことから、製剤を構成する全成分を総合的に考慮し、かつ*in vitro*で効率的に味覚評価ができる方法を確立することが重要となる。

近年、医薬品の味覚評価を行う方法として味センサーを用いた評価方法が提唱され、これまでにいくつかの研究成果が報告されている^{43, 46-56)}。代表的な報告として、味認識装置 (Insent TS-5000Z, 株式会社インテリジェントセンサーテクノロジー、厚木)^{43, 46-48)}、および電子味覚システム (α -ASTREE, Alpha M.O.S., Toulouse, France)^{49-53, 57)}を用いたものである。味認識装置は、基本五味(苦味、甘味、塩味、酸味、旨味)を示す呈味物質に対し、広域選択的に相互作用して応答する人工脂質型センサーを有しているのが特徴である。一方、電子味覚システムは味認識装置のように基本五味ごとに応答するセンサーではなく、溶液中の多様な有機、無機成分と相互作用して応答する7本のセンサーを有している。検出部は化学的電界効果トランジスタ (Chemical field effect transistor, CHEMFET) 技術に基づき⁵⁷⁾、サンプル中に溶解している広範囲の味物質が感応膜に対し特定の相互作用を誘発し、これを信号として検出し評価する仕組みとなっており、基本五味以外も含めた広範囲な味覚評価が可能であるのが特徴である。

これまで、味センサーを用いた研究報告は、ほとんどが薬物のみ、あるいは市販製剤に対し、口腔内での溶出を想定しない条件で測定と評価を行うという比較的単純な系であった^{43, 49-53)}。Nakamuraらは、ヒトにおけるODTの服用性を予測するモデルを電子味覚システムによって構築し、製剤開発における味覚評価法の1つとして展開できる可能性を示唆している⁵⁸⁾。ODTは様々な成分を含有し、実際の製剤設計では目標の味マスキング効果を得るために、味マスキングに関わる製剤成分の量を変化させて検討を行うことが一般的である。また、ヒト口腔内の状態を可能な限り考慮した条件で味センサーによる評価を行う場合、ヒトの口腔内における薬物溶出を模倣したサンプル液の採取が重要である。さらに、味センサーによる分析評価を考慮した場合、その性能を検証することも重要である。

そこで本研究では、ODTの服用性に関わる一因である味に着目し、ODTの製剤開発で必要となる味マスキング効果評価方法の確立を目的とした。モデル製剤としてわずかに特異なおいと苦味を有するアムロジピンのODTを採用した。

第1章では、アムロジピンODT服用時のヒト口腔内における薬物溶出を模倣する*in vitro*溶出試験法について検討を行った。アムロジピンベシル酸塩に対する水不溶性高分子コーテ

ィング量が異なる ODT を製造し、健康成人を対象として服用後 15、30 および 60 秒における口腔内薬物溶出量を測定した。また、*in vitro* での溶出試験法によりアムロジピン溶出率を求め、*in vitro* と *in vivo* の溶出量の一致性について検証を行った。

第 2 章では、味センサーとして電子味覚システムを選択し、アムロジピン ODT をモデル製剤として、味マスキング効果を評価するための電子味覚システムの分析性能について検証を行った。アムロジピン ODT の製剤成分からなるマトリクス溶液を調製し、電子味覚システムで評価する際の濃度を考慮した複数のアムロジピン溶液を調製した。マトリクス溶液に対するアムロジピン溶液のユークリッド距離を各濃度溶液で求め、直線性、真度ならびに精度の面から分析性能を検証した。

第 3 章では、第 1 章における *in vitro* 溶出試験法と電子味覚システムを組み合わせた味マスキング効果評価法を用い、異なる味マスキングを施した 16 種のアムロジピン ODT を評価した。そのうち、6 種のアムロジピン ODT は健常成人を対象とした味覚官能試験を実施し、総合服用感の指標として Visual analogue scale (VAS) により評価した。この結果に対してセンサー応答値を用いた Partial least squares analysis (PLS 解析) ならびにユークリッド距離解析を行い、総合服用感を予測するモデル式を構築した。これら解析法の妥当性を検証するためにクロスバリデーションを実施するとともに、得られた服用感予測モデル式に従って服用感の予測評価を実施した。

第1章 ヒト口腔内を想定したアムロジピン口腔内崩壊錠の溶出試験法の検討

第1節 緒言

ODTは、口腔内で水なしで速やかに崩壊するという錠剤特性から、高齢者を含む嚥下困難な患者に有用であることが報告されている⁵⁹⁾。ODTに含まれる不快味な薬物に物理的マスキングを行う場合、服用時に口腔内における薬物溶出量が不快な味と感知される閾値量以下とすることを目標に実施されるため、口腔内薬物溶出量を評価することは味マスキングの観点から極めて重要であると考えられる。これに対し、これまでにODT服用時の口腔内薬物溶出量を*in vitro*にて測定する方法がいくつか報告されている。例として、溶出試験を応用した方法⁴⁰⁻⁴²⁾、注射筒正倒立法^{36, 38)}、マグネチックスターラー⁴³⁾やタッチミキサー³⁷⁾による攪拌溶出法、ミニカラムを利用した方法³⁹⁾、静置方法⁴⁴⁾などが挙げられるが、それら*in vitro*での溶出量とヒトの口腔内での溶出量が一致するかについて検証されていないのが現状である。

本章では、味マスキング手法の中でも代表的な物理的マスキング法の効果を評価するため、ODT服用時のヒト口腔内における薬物溶出量を模倣する*in vitro*測定方法について検討した。まず、ヒト口腔内における薬物溶出量を求めるため、ODT服用時の口腔内薬物溶出量について検討を行った。モデル製剤として薬物がわずかに特異なおいと苦味を有するアムロジピンODTを採用し、物理的マスキングによる味マスキング効果が異なるODTの製造を目的として、水不溶性高分子であるエチルセルロースを用いて、アムロジピンベシル酸塩に対しコーティング量が異なるODTをRACTAB技術で製造した^{16, 17)}。これを健康成人に服用させ、口腔内の唾液および錠剤残渣を全て吐き出し、ヒト口腔内における薬物溶出量を測定した。また、*in vitro*での溶出試験法によりアムロジピン溶出率を求め、*in vitro*と*in vivo*の薬物溶出量の一致性について検証をすることによって、ODT服用時のヒト口腔内薬物溶出量を最も模倣する*in vitro*試験方法について検討した。

第2節 実験方法

1-2-1. 試料

アムロジピンベシル酸塩はダイト株式会社（富山）、D-マンニトールは Roquette Japan 株式会社（東京）とメルク株式会社（東京）、エチルセルロースはダウ・ケミカル日本株式会社（東京）、タルクは林化成株式会社（大阪）、ペパーミント香料は高砂香料工業株式会社（東京）、軽質無水ケイ酸は富士シリシア化学株式会社（東京）、ステアリン酸マグネシウムは太平化学産業株式会社（大阪）から購入した。なお、製剤原料はいずれも日本薬局方適合品、医薬品添加物規格適合品あるいは食品用グレードを使用した。速崩壊性粒子については東和薬品株式会社（大阪）から研究用に提供されたものを用いた^{16,17)}。

1-2-2. アムロジピン ODT の製造方法

本研究で用いるアムロジピン ODT は、アムロジピンベシル酸塩として 6.93 mg（アムロジピンとして 5 mg）含有するようにし、RACTAB 技術を用いて製造した^{16,17)}。まず、アムロジピンベシル酸塩と D-マンニトールを 1:4 の割合で流動層造粒装置（MP-01、株式会社パウレック、大阪）により混合した。この混合末に対し、90wt% 無水エタノールにエチルセルロースとタルクを 2:1 の割合で溶解・分散させた液を噴霧して、味マスキングのための微粒子コーティングを行った。この際、アムロジピンベシル酸塩に対するコーティング量を変化させ（1錠質量に対するエチルセルロースの添加量として 0、4、6 および 10%）、味マスキング効果の異なる 4 種類のアムロジピンマスキング粒子を製した。次に打錠用顆粒を製する打錠前の混合として、各々のアムロジピンマスキング粒子に対し、D-マンニトール、速崩壊性粒子、ペパーミント香料、軽質無水ケイ酸、ならびにステアリン酸マグネシウムを混合し（速崩壊性粒子から順に 1錠中 65.6%、0.5%、0.2% 及び 0.7%）、次にロータリー式打錠機（VELA5、株式会社菊水製作所、京都）にて打錠して 4 種類のアムロジピン ODT を製造した（C0、C4、C6 および C10）。いずれの ODT も錠剤径が 8.0 mm、錠剤質量が 205 mg となるように製した。なお、各々のアムロジピンマスキング粒子の質量が異なるため、これに伴う差は打錠前混合時に加える D-マンニトールの添加量を調整して 1錠 205 mg となるようにした。

1-2-3. アムロジピン ODT の製剤物性評価

1-2-3-1. 錠剤硬度

ロードセル式錠剤硬度計（PC-30、岡田精工株式会社、東京）を用いて測定した。各処方において 3 錠の硬度を測定し、平均値を算出した。

1-2-3-2. 客観的崩壊時間

ODT の崩壊時間測定に特化した崩壊試験機であるトリコープテスタ（岡田精工株式会社、東京）を用いて測定した⁶⁰⁾。金属製のメッシュ板 2 枚で上下から ODT をはさみ、試験液として 37°C に加温した人口唾液（NaCl 1.44 g、KCl 1.47 g、0.3 % Tween 80 を精製水 1 L に溶解）を用い、試験開始後に 6.0 mL/min の流速で上部から滴下した。上部メッシュ板の荷重を 40 g

とし、上下のメッシュ板が重なった時を崩壊時間とした。各処方において3錠の崩壊時間を測定し、平均値を算出した。

1-2-3-3. 溶出試験

第十七改正日本薬局方溶出試験法のパドル法（50 rpm）に従い、溶出試験機（PJ-6S、宮本理研工業株式会社、大阪）を用いて行った。試験液は $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に加温した900 mLの精製水を用い、試験開始から5、10、15、30および45分後にサンプリングを行って、高速液体クロマトグラフィー（High performance liquid chromatography, HPLC、株式会社島津製作所、京都）によって各時点のアムロジピンベシル酸塩の溶出率を1-2-6に記載の手順に従って測定した。各処方における3錠で溶出試験を実施し、平均値を算出した。

1-2-4. 健康成人における *in vivo* 口腔内容出試験

1-2-4-1. 対象

1-2-2に示した4種のアムロジピンODT（C0、C4、C6およびC10）を健康成人10名（男性9名、女性1名、平均年齢 22.7 ± 0.8 歳）を対象に、ヒト口腔内容出試験を実施した。本試験における全てのプロトコールは浜松医科大学臨床研究倫理委員会に承認され、UMIN臨床試験登録システムに登録された（登録番号：UMIN000030831）。被験者に対して本研究の目的、方法、予測される効果について説明を行い、文書同意を得た。

1-2-4-2. 試験方法

Fig. 1に本試験の実施手順について示した。試験は単盲検ランダム化クロスオーバー法により行った。被験者は、初回試験開始の15分前にミネラルウォーターで口を漱いだ後、試験者の合図とともに被験ODTを口に含んだ。各試験時間（15、30および60秒）が経過した後、速やかに口腔内の唾液および錠剤残渣をシリンジ（SS-20ESZ、テルモ株式会社、東京）に全て吐き出すようにした。その直後、孔径 $0.45 \mu\text{m}$ のディスクフィルター（25CS045AN、アドバンテック東洋株式会社、東京）でろ過を行い、口腔内における薬物溶出率を計算するため、本ろ液の質量、ならびにシリンジとフィルター内に残った錠剤残渣を含む唾液質量を測定した。なお、本試験終了後に1-2-6に記載の手順に従ってHPLCでろ液中のアムロジピン濃度を求めた。一方、シリンジに吐き出した直後、口腔内の残渣を取り除くため、滅菌ガーゼ（No. 5050、大和工場株式会社、大阪）で口腔内をふき取り、錠剤残渣を含んだ残りの口腔内唾液質量を測定した。これらの値を用いて、下記の式に従ってアムロジピンの*in vivo*溶出率（ D_{vivo} ）を求めた。なお、唾液の密度は 1 g/mL と考えた。その後、被験者は口腔内を150 mLのミネラルウォーターで2回漱ぎ、次の試験に備えた。各被験ODTの評価は、直前の試験でODTを服用してから20分の間隔をあけた。

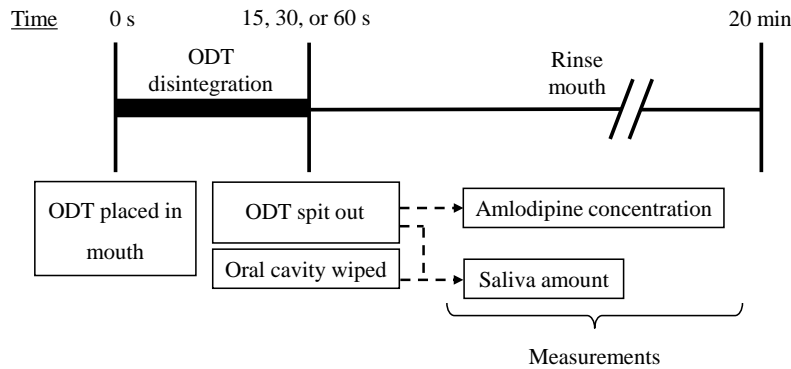


Fig. 1 Schematic procedure of *in vivo* dissolution test.

$$D_{vivo} = \frac{C_{aml}(L_{aml} + S_{sil} + S_{gau} - M)}{d_{sal} \cdot A} \times 100$$

D_{vivo} : *In vivo* 溶出率 (*In vivo* dissolution ratio)

C_{aml} : ろ液中のアムロジピン濃度 (Amlodipine concentration in saliva)

L_{aml} : アムロジピンを含むろ液の質量 (Weight of the filtrate including amlodipine)

S_{sil} : 錠剤残渣を含み、ろ過後のシリンジとディスクフィルター内に残った唾液質量 (Weight of saliva including any remnants in the injection syringe and disc filter after the filtration)

S_{gau} : 錠剤残渣を含み、ガーゼでふき取られた唾液質量 (Weight of saliva including any remnants wiped with gauze)

M : アムロジピン ODT の質量 (Tablet weight of amlodipine orally disintegrating tablet, 205 mg)

d_{sal} : 唾液の密度 (Saliva density, 1 g/mL)

A : ODT 中のアムロジピン含有量 (Content of amlodipine in the orally disintegrating tablet, 5 mg)

1-2-5. *In vitro* 溶出試験

5 種類の *in vitro* 溶出試験法 (トリコープテスト法、攪拌法⁴³⁾、注射筒正倒立法^{36, 38)}、パドル法、振盪法) で試験を実施し、試験時間は 1-2-4 と同じ 15、30 および 60 秒に設定した。各試験時間後に得られた試験液は、孔径 0.45 μm のディスクフィルター (GLCTD-MCE2545、株式会社島津ジーエルシー、東京) でろ過を行い、1-2-6 に記載の手順に従って HPLC でアムロジピン濃度を測定した。

1-2-5-1. トリコープテスト法

装置、ならびに試験で使用する人工唾液は 1-2-3-2 に記載したものと同一である。試験開始後、3.0 mL/min の流速で上部から人工唾液を滴下した。1-2-3-2 では、ODT が崩壊してメッシュ板が重なると人工唾液の滴下が止まって試験が終了するが、本試験では設定した試験時間まで人工唾液が滴下される設定とした。

1-2-5-2. 攪拌法

攪拌法は、直径 0.5cm で長さ 1.5cm の攪拌子、ならびに $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に加温した精製水 10 mL を 30 mL ガラスビーカーに入れ、マグネチックスターラー (RS-1DN、アズワン株式会社、大阪) で回転数 200 rpm として試験を行った⁴³⁾。

1-2-5-3. 注射筒正倒立法

白井らの方法を参考とし、ODT1 錠と $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に加温した精製水 5 mL を 10 mL シリンジ (SS-10SZ、テルモ株式会社、東京) に入れ、3 秒ごとに回転して正立と倒立を繰り返した^{36, 38)}。

1-2-5-4. パドル法

1-2-3-3 と同様に第十七改正日本薬局方溶出試験法のパドル法 (50 rpm) に従い、溶出試験機 (PJ-6S、宮本理研工業株式会社、大阪) を用いて試験を行った。試験液は $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に加温した 900 mL の精製水を用い、各試験時間にて試験液をサンプリングした。

1-2-5-5. 振盪法

$37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に加温した精製水 10 mL を 30 mL コニカルフラスコに入れ、振盪機 (PERSONAL-11、タイテック株式会社、越谷) にセットして振盪速度 60 rpm で試験をした。

1-2-6. HPLC による測定

アムロジピンを測定するために用いる HPLC (Prominence UFLC、株式会社島津製作所、京都) は、構成として、オンライン脱気ユニット (DGU-20A3)、送液ユニット (LC-20AD)、カラムオーブン (CTO-20AC)、オートサンプラ (SIL-20AC)、フォトダイオードアレイ紫外可視検出器 (SPD-M20A) およびシステムコントローラ (CBM-20A) から成っている。カラムは Atlantis dC₁₈ (4.6×150 mm、日本ウォーターズ株式会社、東京) を用い、カラムオーブンを 40°C に設定した。リン酸で pH 3.0 となるように調整した 0.05 mM トリエチルアミン水溶液とアセトニトリルを 3:2 で混合したものを移動相とし、流速を 1.0 mL/min、サンプル注入量を 50 μL 、測定波長を 237 nm とした。分析ソフトとして HPLC に付属している LC Solution を使用した。

1-2-7. データ解析

1-2-7-1. *In vivo* - *in vitro* 溶出量の間における差の評価

In vivo と *in vitro* の間における溶出量の一致性について検証するため、*in vivo* における溶出率 (D_{vivo}) と *in vitro* における溶出率 (D_{vitro}) を用い、両者間における差の偏りを平均化して評価するための平均予測誤差 (Mean Prediction Error, MPE)、両者間における差をその絶対値の平均で評価するための平均絶対誤差 (Mean Absolute Error, MAE)、ならびに両者間における差の二乗値を平均化した平方根で評価するための平均二乗誤差平方根 (Root Mean Squared Error, RMSE) を計算した。その際、 D_{vivo} を基準とし D_{vitro} に対する百分率で表示するように算出した (各々%MPE、%MAE、%RMSE とした)。

$$\% \text{平均予測誤差 (\%MPE)} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \left\{ \frac{1}{D_{vivo}} (D_{vitro} - D_{vivo}) \times 100 \right\}$$

$$\% \text{平均絶対誤差 (\%MAE)} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \left\{ \frac{1}{D_{vivo}} |D_{vitro} - D_{vivo}| \times 100 \right\}$$

$$\% \text{平均二乗誤差平方根 (\%RMSE)} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \left\{ \frac{1}{D_{vivo}} (D_{vitro} - D_{vivo}) \times 100 \right\}^2}$$

D_{vivo} : *In vivo* 溶出率 (*In vivo* dissolution ratio)

D_{vitro} : *In vitro* 溶出率 (*In vitro* dissolution ratio)

1-2-7-2. 統計解析

得られた全てのデータは平均値 ± 標準偏差で表示した。統計解析は Graphpad Prism version 5.0 ソフトウェア (Graphpad Software, Inc., San Diego, CA, USA) を用い、%MPE、%MAE、および%RMSE について、両側 95%信頼区間を求めた。

第3節 実験結果

1-3-1. アムロジピン ODT の製剤物性

Table 1 に 4 種類のアムロジピン ODT の錠剤物性を示した。崩壊時間は FDA のガイダンスで推奨されている 30 秒以内であり、いずれの ODT も同様の崩壊時間であった。また、Fig. 2 よりエチルセルロースによるコーティング量が多いほど、溶出率並びに溶出速度が低下した。

Table 1 Tablet characteristics of amlodipine ODTs

	C0	C4	C6	C10
Hardness (N)	57.3 ± 1.2	72.0 ± 2.2	72.0 ± 0.8	70.3 ± 2.1
Disintegration time (s)	12.9 ± 0.3	11.5 ± 0.5	11.0 ± 0.4	12.3 ± 0.4

Values are shown as the mean ± SD (n = 3).

Hardness was measured with a hardness meter (PC-30, Okada Seiko Co., Ltd. Tokyo, Japan) and disintegration time with a Tricorptester (Okada Seiko Co., Ltd. Tokyo, Japan).

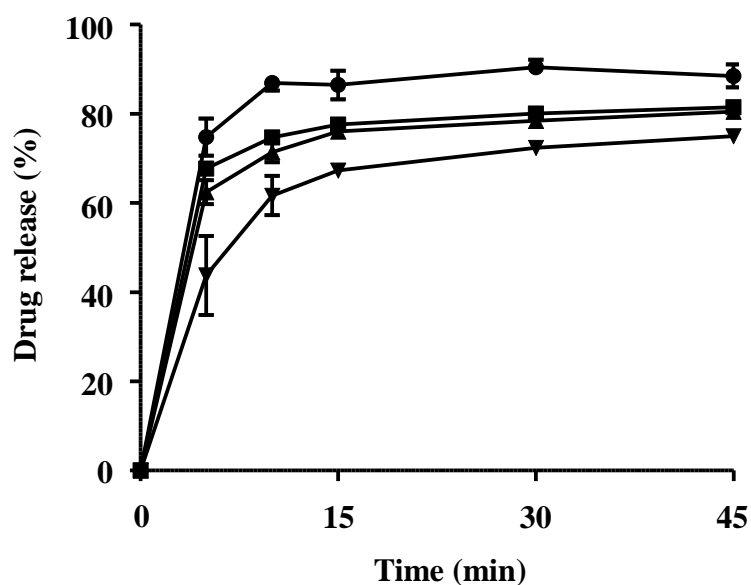


Fig. 2 Drug dissolution profiles in amlodipine ODTs of C0 (●), C4 (■), C6 (▲) and C10 (▼).

Percent drug release for each time period is shown as the mean ± SD (n = 3).

The dissolution test was conducted using a paddle apparatus (50 rpm, 900 mL water).

1-3-2. ヒト口腔内容出試験における薬物溶出結果

エチルセルロースコーティング量が異なる4種のアムロジピン ODT を用い、健康成人で実施した *in vivo* ヒト口腔内容出試験の結果を Fig. 3 に示した。各 ODT にて試験時間の経過に伴って平均溶出率が増加し、エチルセルロース量が増加するにつれて平均溶出率が減少する傾向が認められた。また、服用する ODT の種類が異なっても各試験時間における唾液量に明らかな差異は認められなかった (Table 2)。

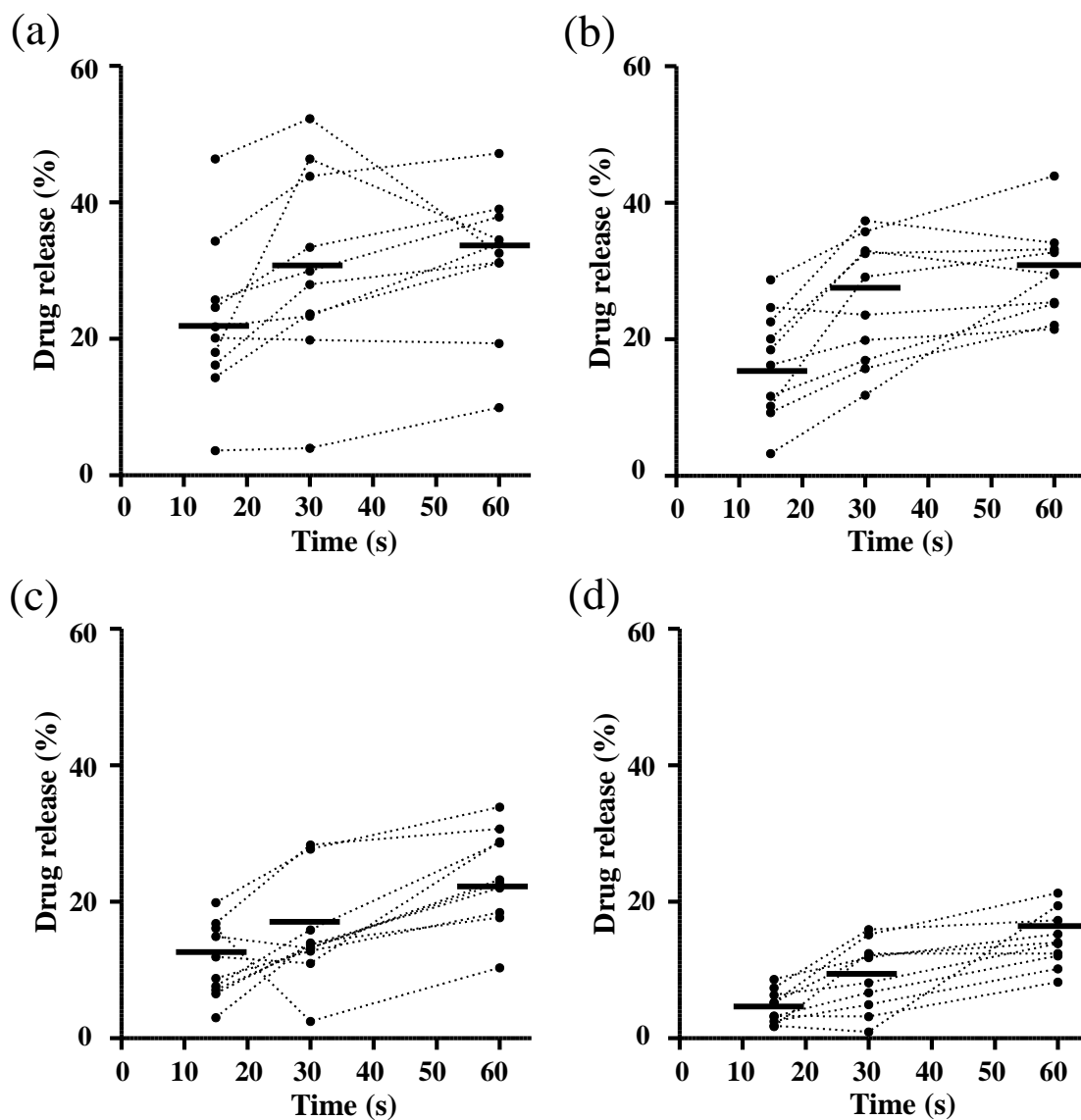


Fig. 3 Percent drug release in the oral cavity from amlodipine ODTs of C0 (a), C4 (b), C6 (c) and C10 (d). Each point represents percent drug release of amlodipine in the oral cavity of the 10 healthy volunteers. Horizontal line indicates the mean value for each test time period.

Table 2 Saliva volume in subjects for each testing time

	Saliva volume (mL)		
	15 s	30 s	60 s
C0	1.55 ± 0.64	1.71 ± 0.63	2.31 ± 0.74
C4	1.46 ± 0.39	1.75 ± 0.52	2.37 ± 0.88
C6	1.43 ± 0.43	1.75 ± 0.62	2.17 ± 0.71
C10	1.44 ± 0.47	1.78 ± 0.64	2.12 ± 0.71
Overall	1.47 ± 0.49	1.75 ± 0.61	2.24 ± 0.77

Saliva volumes are shown as the mean ± SD (n = 10).

1-3-3. *In vitro* 溶出試験による薬物溶出結果

5種類の *in vitro* 溶出試験にて4種のアムロジピン ODT を評価した結果を Fig. 4 に示した。各々の試験において平均溶出率は時間の経過に伴い増加する傾向にあり、特に振盪法は他の4種の方法に比べて溶出率が高かった。また、エチルセルロースによるコーティング量の増加に伴い、パドル法を除いて全ての試験時間で平均溶出率が減少した。

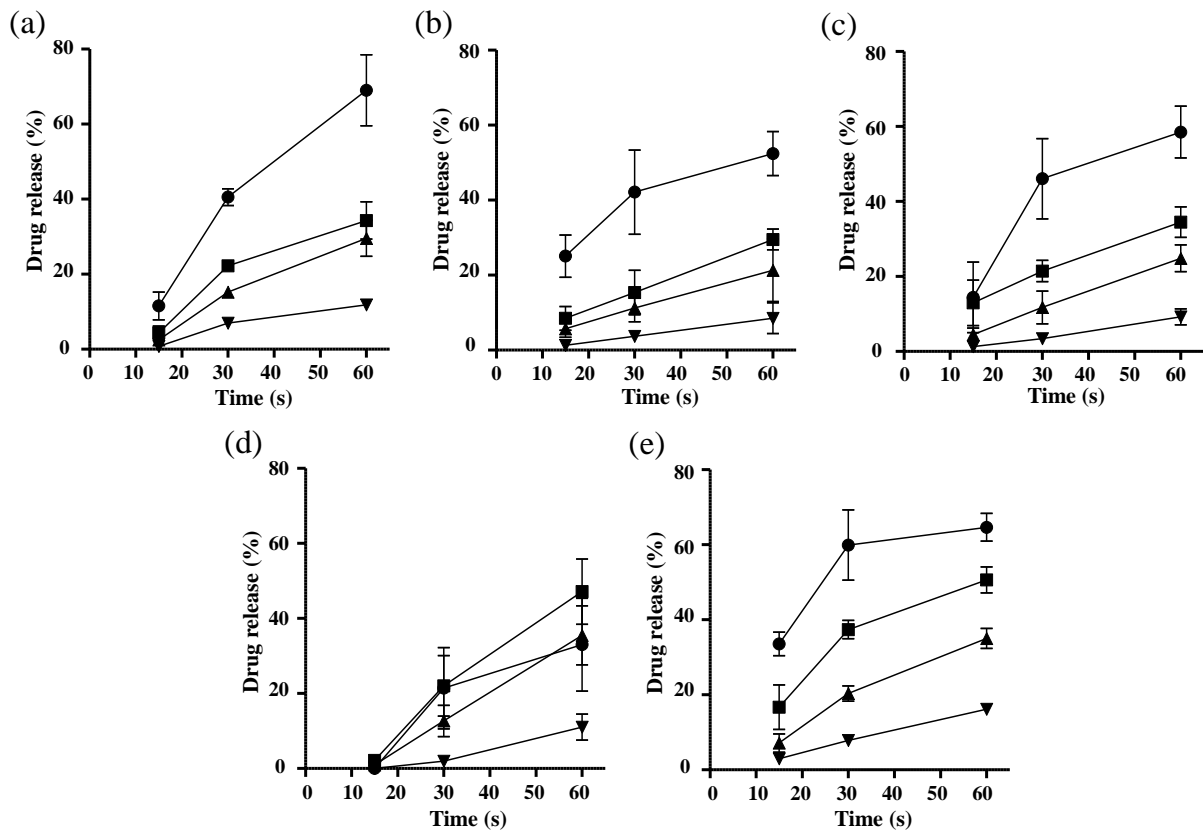


Fig. 4 Drug dissolution profiles in amlodipine ODTs (●, C0 ; ■, C4 ; ▲, C6 and ▼, C10) in *in vitro* short dissolution tests (Tricorptester (a), Magnetic stirrer (b), Rotating injection syringe (c), Paddle apparatus (d) and Shaking (e)). Percent drug release for each time period is shown as the mean ± SD (n = 4).

1-3-4. *In vivo* - *in vitro* の溶出量の一致性

アムロジピン ODT 服用時のヒト口腔内における薬物溶出率 (*in vivo*) と 5 種類の *in vitro* 溶出試験より得られた結果を Fig. 5 に示した。試験時間 15 秒における溶出率は、*in vitro* に比べて *in vivo* の方が高くなる傾向にあり、一方試験時間 60 秒においては逆に *in vitro* が *in vivo* と比較して高くなる傾向にあった。試験時間 30 秒においては、15 秒と 60 秒におけるような明確な差は認めなかった (Table 3)。 *In vivo* と *in vitro* の関係を詳細に評価するために、%MPE、%MAE および %RMSE を求め、Table 3 にまとめた。その結果、15 秒における振盪法と 60 秒における攪拌法を除き、15 秒と 60 秒におけるこれらの値が、30 秒の値より大きくなった。また、全ての中で %MPE、%MAE および %RMSE が最も小さかった条件は、トリコープテスト法の 30 秒であった。

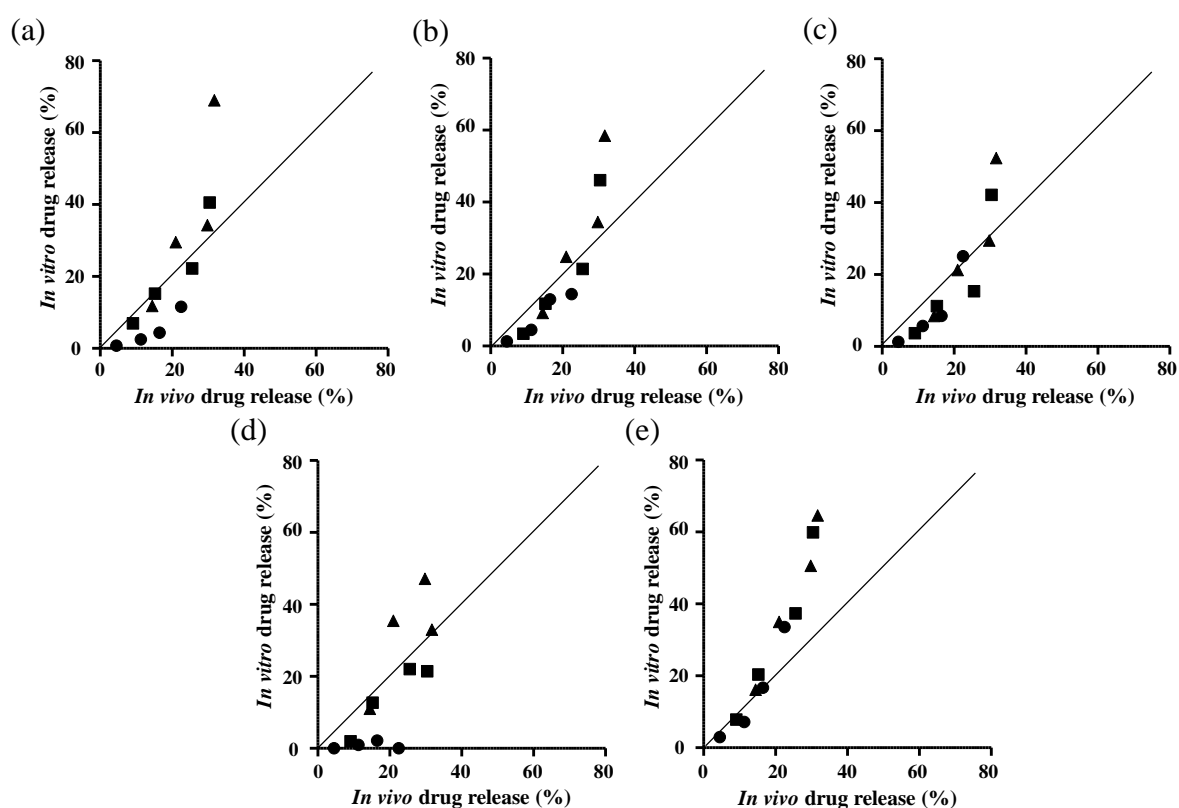


Fig. 5 Comparison of percent drug release of amlodipine ODTs between in the oral cavity (*in vivo*) and in *in vitro* dissolution tests (Tricorptester (a), Magnetic stirrer (b), Rotating injection syringe (c), Paddle apparatus (d), and Shaking (e)).

Each point represents the mean of *in vivo* (n = 10) and *in vitro* (n = 4) drug release at each sampling point (15 seconds (●), 30 seconds (■) and 60 seconds (▲)).

Table 3 Consistency of different methods with dissolution in oral cavity after 15, 30 and 60 seconds

	%MPE	%MAE	%RMSE
15 seconds			
Tricorptester	-70.8 (-83.8–57.7)	70.8 (57.8–83.8)	72.0 (55.2–88.9)
Magnetic stirrer	-39.6 (-69.9–9.36)	45.3 (24.1–66.5)	50.2 (32.8–67.6)
Rotating injection syringe	-47.2 (-66.5–27.9)	47.2 (27.9–66.5)	51.2 (33.0–69.3)
Paddle apparatus	-94.5 (-100.1–89.1)	94.6 (89.1–100.1)	94.8 (84.4–105.1)
Shaking	-5.1 (-39.1–28.8)	30.2 (12.9–47.6)	35.0 (26.7–43.4)
30 seconds			
Tricorptester	-0.8 (-21.7–20.1)	17.4 (5.4 -29.5)	21.3 (17.2–25.5)
Magnetic stirrer	-21.7 (-57.7–14.2)	40.9 (29.3–52.6)	42.6 (32.4–52.8)
Rotating injection syringe	-12.5 (-52.5–27.5)	38.1 (19.3–56.9)	42.7 (28.0–57.4)
Paddle apparatus	-34.6 (-60.1–9.2)	34.6 (9.2 -60.1)	43.3 (19.0–67.7)
Shaking	40.5 (1.7 -79.3)	47.8 (17.9–77.6)	56.6 (21.2–92.1)
60 seconds			
Tricorptester	39.2 (-9.8–88.2)	48.0 (7.2 -88.8)	63.5 (7.3–119.8)
Magnetic stirrer	6.4 (-31.0–43.8)	27.2 (0.3 -54.2)	38.7 (21.4–56.0)
Rotating injection syringe	20.8 (-21.3–62.8)	38.8 (11.7–65.9)	47.6 (19.6–75.7)
Paddle apparatus	27.2 (-10.2–64.5)	38.8 (13.1–64.5)	46.8 (27.4–66.2)
Shaking	63.3 (31.0–95.6)	63.3 (31.0–95.6)	71.4 (34.1–108.7)

%MPE, percent mean prediction error ; %MAE, percent mean absolute error and %RMSE, percent root mean squared error. Values are shown as the mean (95% coefficient interval, n = 4).

第4節 考察

本章では、ODT 服用時のヒト口腔内薬物溶出を最も模倣する *in vitro* 溶出試験法を検討した。モデル製剤としてアムロジピン ODT を採用し、味マスキング効果の異なるエチルセルロースコーティングを施した 4 種のアムロジピン ODT (C0、C4、C6 および C10) を製造した。まず、ヒト口腔内における薬物溶出量を検討するために、これら 4 種の ODT を健康成人の口腔内に含ませ、口腔内におけるアムロジピン溶出率を測定した。その結果、ODT 服用後からの時間経過に伴い溶出率の増加を確認することができ、30 秒におけるアムロジピン溶出率は C0 で 30.5%、C4 で 25.6%、C6 で 15.2%、C10 で 9.1%であった。また、エチルセルロースのコーティング量増加に伴い、口腔内の薬物溶出が抑制されていたことから、味マスキングが効果的に行われていると考えられた。

Nakamura らは、本章と同じ製剤成分と製造方法を用いてエチルセルロースによる味マスキング有りおよび無しのアムロジピン ODT を製造し、ヒトによる味覚官能試験に関する報告をしている⁵⁸⁾。評価指標として Visual Analogue Scale (VAS) を利用し、その値が大きくなるほど服用感に優れているとした。味覚官能試験の結果、コーティングされたアムロジピンを含む ODT の方が服用感に優れていることがわかった。一方、本章での検討結果より、口腔内におけるアムロジピン溶出率は、エチルセルロースによるコーティング量の増加に伴い減少することが確認された。両検討結果は、口腔内における薬物溶出の減少が服用性改善に関係していることを示唆するものであり、今回の検討結果は、薬物にコーティングを施すことによる味マスキングが服用性の改善につながることを定量的に示すものである。

ヒト口腔内における薬物溶出率を模倣する *in vitro* 溶出試験を検討するために、5 種類の試験 (トリコープテスト法、攪拌法⁴³⁾、注射筒正倒立法^{36,38)}、パドル法、振盪法) を実施した。その結果、パドル法を除いてコーティング量が増加するほど溶出率の減少が認められ、ヒトにおける結果と一致することがわかった。よって、パドル法を除くこれら *in vitro* 試験法が、味マスキング効果の短時間で評価する方法として適していることが示唆された。次に、試験時間に着目したところ、興味深いことに、試験時間 15 秒における溶出率は *in vivo* の方が *in vitro* に比べて高くなる傾向にあり、逆に試験時間 60 秒では *in vitro* が *in vivo* より高くなる傾向にあることがわかった。試験時間が短い場合、*in vitro* における ODT の崩壊状態は崩壊途中から崩壊終了直後の段階であり、これが *in vivo* と *in vitro* の溶出率に差を与える要因になっていると考えられた。特に注射筒正倒立法とパドル法は、他法に比べて ODT にかかる力が比較的小さいため、試験時間 15 秒において *in vivo* との差が特に大きい傾向にあった。一方、崩壊終了後のヒト口腔内における ODT は、外圧が継続して加わることは無いが、*in vitro* の条件下では試験時間終了まで攪拌等による外部からの力が加えられる。よって、試験時間が 60 秒の場合に *in vitro* の溶出量が *in vivo* と比較して高値を示したと考えられた。

FDA のガイダンスによると、ODT の崩壊時間は 30 秒以内と推奨されており、Yoshita らの研究でも、調査した ODT が 30 秒以内に崩壊することが報告されている¹⁹⁾。本章での検討結果からも、試験時間 30 秒において *in vivo* と *in vitro* の差が少なくなる傾向にあり、今回の結果は妥当であると推測された。この結果を詳細に解析するために、%MPE、%MAE およ

び%RMSEを算出したところ、*in vivo*との差の偏りを表す%MPEが最も0に近く、かつ*in vivo*との差を絶対誤差で表す%MAE、ならびに最小二乗誤差で表す%RMSEが最も小さかったのは、全ての条件の中で30秒におけるトリコープテスト法であった。

以上、本章での検討結果より、ヒト口腔内におけるアムロジピンODTの薬物溶出を最も模倣する試験法は試験時間30秒におけるトリコープテスト法であると考えられ、ヒト口腔内薬物溶出と比較できる結果を得ることができた。また、本法を用いることによって、口腔内薬物溶出を調べるための試験法に展開できることが期待される。

第2章 アムロジピン口腔内崩壊錠の味マスキング効果を評価する電子味覚システムの分析性能評価

第1節 緒言

本研究では、不快味を有するアムロジピンをモデル薬物とし、それに対し味マスキングを施して製造したアムロジピンODTを電子味覚システムで評価することで、ODT開発における実用的な味マスキング効果評価法として確立することを目的としている。欧州医薬品審査庁（European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, EMEA; 現、欧州医薬品庁, European Medicines Agency, EMA）が2006年に発表した「Formulations of Choice for the Paediatric Population」というリフレクションペーパーにおいても味センサーによる評価が推奨されているため、電子味覚システムをはじめとした味センサーによる評価は非常に有用であると考えられる⁶¹⁾。電子味覚システムでの分析評価を考えた場合、どの程度のレベルで味マスキング効果を評価できるかについて明確にしておくことが重要である。つまり、本装置による測定データとヒトにおける服用感との相関性、ならびに味マスキング効果を評価するための分析性能について検証しておく必要があると考えられる。さらに、本装置による分析評価の際は、ヒトがODTを服用した際の口腔内溶出を可能な限り模倣するサンプル液を使用することが望まれる。これに対しては、第1章の結果より試験時間30秒のトリコープテスト法がODT服用時の口腔内溶出を最も模倣することを確認している。

本章では、30秒のトリコープテスト法を用いて電子味覚システムで評価するサンプル液の調製を行うことを見据え、電子味覚システムによる味マスキング効果評価の分析性能について検証を行った。味センサーの分析性能について検討した報告例はいくつかあり^{62, 63)}、Peinらは、カフェインならびにそれに有機酸を組み合わせた複数の塩をモデル薬物として特異性、直線性、真度、ならびに精度などの項目について検証し報告している⁶³⁾。一般的に、製剤に含まれる成分の中で薬物が最も不快味を有するケースが多く、薬物に着目して電子味覚システムによる評価を行うことは適切かつ重要であると考えられる。しかし、ODTをはじめとした製剤を評価する際は、薬物以外の製剤成分も含めた形で評価することとなる。これまでの報告例は、主に薬物単体のみに着目して検証された結果であり、製剤を構成する他の成分の影響については深く検討されていなかった。そこで、薬物以外の製剤成分によって構成されるマトリクス溶液を調製し、これを母液として電子味覚システムで評価する際の濃度を考慮した複数のアムロジピン溶液を調製した。これらアムロジピン溶液とマトリクス溶液を電子味覚システムで測定し、得られたセンサー応答値からマトリクス溶液に対する各アムロジピン溶液のユークリッド距離を算出し、直線性、真度及び精度の面から検証を行った。

第2節 実験方法

2-2-1. 試料

1-2-1と同様に、薬物はアムロジピンベシル酸塩、マトリクス溶液を調製するためのD-マンニトール、速崩壊性粒子、ペパーミント香料、軽質無水ケイ酸およびステアリン酸マグネシウムを用いた。人工唾液の調製で使用する試料も1-2-3-2と同様のものを使用した。

2-2-2. マトリクス溶液の調製

アムロジピンODTをトリコープテスト法で試験した際、アムロジピンベシル酸塩を除く製剤成分(プラセボ成分)が人工唾液に対して溶解可能な範囲で十分に溶解していると仮定し、この液からアムロジピンベシル酸塩を除いた液をマトリクス溶液と定義した。今回マトリクス溶液を調製する際は、トリコープテストを用いる代わりにマグネチックスターラーを用い、プラセボ成分が人工唾液に十分溶解する条件で調製を行った。300 mLの人工唾液に対し、プラセボ成分の200錠分を添加し、マグネチックスターラーで5分間十分に攪拌した後、1時間静置した。その後、孔径0.45 μm のメンブランフィルターで吸引ろ過を行い、このろ液をマトリクス溶液とした。なお、味マスクングで使用されるエチルセルロースとタルクは不溶性成分であるため、今回の調製試料からは省いた。

電子味覚システムによる測定では、トリコープテスト法で試験をして得られたサンプル溶液7.5 mLに精製水を加えて30 mLとし、4倍希釈してから測定を行うため、マトリクス溶液も同様の割合で希釈を行い、希釈マトリクス溶液として本章での試験に使用した。

2-2-3. 分析性能検証用サンプルの調製

希釈マトリクス溶液を用い、下記の濃度となるようにアムロジピン溶液を調製した。

- ・直線性：50 $\mu\text{g/mL}$ 、100 $\mu\text{g/mL}$ 、200 $\mu\text{g/mL}$ 、500 $\mu\text{g/mL}$ 、750 $\mu\text{g/mL}$ 、1000 $\mu\text{g/mL}$
- ・真度および精度：50 $\mu\text{g/mL}$ 、100 $\mu\text{g/mL}$ 、500 $\mu\text{g/mL}$

2-2-4. HPLCによる測定条件

HPLCによる測定は、1-2-6に準拠して行った。

2-2-5. 電子味覚システムによる測定法

電子味覚システムは、専用の測定サンプル容器であるガラスビーカーを48本配置できるようになっている。測定サンプルをガラスビーカーに25 mL入れ、あらかじめ設定した測定プログラムの順に従って20°Cの室内環境下で測定を行った。測定は、1つのサンプルに対して120秒間行われ、測定終了前の20秒間(100–120秒)のセンサー応答平均値を各測定におけるセンサー応答値とした。測定サンプル間には、交差汚染やキャリーオーバー防止のためにセンサー洗浄用の精製水をセットし、各サンプルの分析後に10秒間の洗浄を行う設定とした。プログラムの順に従って全サンプルを1回ずつ測定し、これを1サイクルとして合計10サイクルの反復測定を行った。サイクルを重ねることで得られるセンサー応答値は安定し、本研

究では 7-10 サイクル目の測定で得られたセンサー応答値を各サンプルの測定値として解析に用いた。各サンプルとそれに対するセンサー応答値との関係を調べ、分析性能検証用のデータとした。さらに、電子味覚システム付属の解析ソフトである AlphaSoft V14.5 (アルファ・モス・ジャパン株式会社、東京) を用いたユークリッド距離解析も実施した。

2-2-6 ユークリッド距離の算出と解析方法

電子味覚システムは、7 本のセンサーを用いて検体を測定することで 7 種のセンサー応答値を得ることができる。今回、薬物を含む溶液 (アクティブ溶液) とそれに対応するプラセボからなる溶液 (プラセボ溶液) を測定し、以下の式に従って各センサーより得られた応答値から両者間のユークリッド距離を求め、これを味覚評価の指標とした。この距離が小さいほど、プラセボ溶液との差が無くなり、薬物による不快味等の影響が抑制されていると考えた。

$$d_{PQ} = \sqrt{\sum_{k=1}^n (P_k - Q_k)^2}$$

d_{PQ} : アクティブ溶液 P とプラセボ溶液 Q 間のユークリッド距離 (Euclidean distance between active dissolution P and placebo dissolution Q)

P_k : センサー k に対するアクティブ溶液 P の応答値 (Response value of the active dissolution P against sensor k)

Q_k : センサー k に対するプラセボ溶液 Q の応答値 (Response value of the placebo dissolution Q against sensor k)

k : センサーの種類 (Kinds of sensors, 1: AHS, 2: PKS, 3: CTS, 4: NMS, 5: CPS, 6: ANS, 7: SCS)

n : センサーの数 (Number of sensors)

2-2-7. 電子味覚システムの分析性能の検証

2-2-7-1. 直線性

6水準の濃度のアムロジピン溶液(アムロジピン濃度として 50 µg/mL、100 µg/mL、200 µg/mL、500 µg/mL、750 µg/mL および 1000 µg/mL、口腔内薬物溶出率として 9–180%に相当)、ならびに希釈マトリクス溶液を 2-2-5 に示した方法に従って電子味覚システムで測定した。これにより得られたアムロジピン溶液の各センサー応答値、ならびに希釈マトリクス溶液に対する各アムロジピン溶液のユークリッド距離を求め、アムロジピン濃度に対する直線性について確認した。相関係数、y-切片、回帰直線の傾きおよび残差平方和を算出し、得られたデータと残差についてプロットした。

2-2-7-2. 真度および精度

鹿庭ら^{64,65)}は JIS Z8402⁶⁶⁾を参考にした HPLC における分析バリデーションの手順を示している。これを参考として、今回は 3 濃度として 50 µg/mL、100 µg/mL、500 µg/mL を採用し、濃度 (3 種類) と試験日 (3 日間) を変動因子として実験計画 (二元配置実験) を組み、真度、併行精度ならびに室内再現精度の評価を行った (Table 4, 5)。希釈マトリクス溶液を用いて調製した各濃度のアムロジピン溶液、ならびに希釈マトリクス溶液を電子味覚システムにかけ、各アムロジピン溶液のセンサー応答値ならびに希釈マトリクス溶液に対するユークリッド距離を求めた。これを各測定プログラムの中で作成した検量線に当てはめ、予測アムロジピン濃度を算出した。これとは別に HPLC を用いて各アムロジピン溶液のアムロジピン濃度を求め、この濃度に対して電子味覚システムより求めた予測アムロジピン濃度の割合 (回収率) を算出した。この回収率をもとに、鹿庭らの方法に従い真度、併行精度および室内再現精度を求めた。

Table 4 Experimental design for accuracy and precision

Concentration	Test day		
	Day 1	Day 2	Day 3
50 µg/mL	X_{111}	X_{121}	X_{131}
	X_{112}	X_{122}	X_{132}
100 µg/mL	X_{211}	X_{221}	X_{231}
	X_{212}	X_{222}	X_{232}
500 µg/mL	X_{311}	X_{321}	X_{331}
	X_{312}	X_{322}	X_{332}

X_{klm} : 回収率 (Percent recovery)

k : 濃度 (Concentration, 1: 50 µg/mL, 2: 100 µg/mL, 3: 500 µg/mL)

l : 試験日 (Test day)

m : 繰り返し回数 (Repeat count)

Table 5 Analysis of variance table for accuracy and precision

Factor	Sum of squares	Degree of freedom	Mean square	Expectation of variance
Concentration	S_{conc}	ϕ_{conc}	V_{conc}	$\sigma_r^2 + m\sigma_c^2 + ml\sigma_{conc}^2$
Test day	S_{RW}	ϕ_{RW}	V_{RW}	$\sigma_r^2 + m\sigma_c^2$
Residual	S_r	ϕ_r	V_r	σ_r^2
Total	S_T	ϕ_T		

s_c^2 : 室内再現分散成分の母分散の推定値 (Estimated population variance of inter-day variance component)

s_r : 併行精度の母標準偏差の推定値 (Estimated population standard deviation of repeatability)

s_{RW} : 室内再現精度の母標準偏差の推定値 (Estimated population standard deviation of inter-day precision)

ϕ_{RW}^* : 室内再現精度の推定値有効自由度 (Effective degree of freedom for evaluated value of inter-day precision)

ϕ_r : 併行精度の母標準偏差 (Population standard deviation of repeatability)

σ_{RW} : 室内再現精度の母標準偏差 (Population standard deviation of inter-day precision)

μ : 真の値 *回収率として 100% (True value, 100% as the percent recovery)

\bar{x} : 測定値の総平均 (Overall average of measurements)

s_d^2 : 真度の推定値の分散の推定値 (Estimated variance of estimated true value)

δ : 真度 (Accuracy)

d : 真度の推定値 (Estimated value of accuracy)

真度 (Accuracy)

$$d = \bar{x} - \mu$$

$$d - t(\phi_{RW}^*, \alpha) \cdot s_d \leq \delta \leq d + t(\phi_{RW}^*, \alpha) \cdot s_d$$

$$s_d^2 = \frac{V_{RW}}{klm}$$

併行精度 (Repeatability)

$$s_r = \sqrt{V_r}$$
$$\frac{S_r}{\chi^2(\phi_r, \frac{\alpha}{2})} \leq \sigma_r^2 \leq \frac{S_r}{\chi^2(\phi_r, 1 - \frac{\alpha}{2})}$$

室内再現精度 (Inter-day precision)

$$s_{RW} = \sqrt{s_c^2 + s_r^2}$$

$$s_c^2 = \frac{V_{RW} - V_r}{m}$$

$$\frac{\phi_{RW}^* s_{RW}^2}{\chi^2(\phi_{RW}^*, \frac{\alpha}{2})} \leq \sigma_{RW}^2 \leq \frac{\phi_{RW}^* s_{RW}^2}{\chi^2(\phi_{RW}^*, 1 - \frac{\alpha}{2})}$$

$$\phi_{RW}^* = \frac{m^2 s_{RW}^4}{\frac{V_{RW}^2}{\phi_{RW}} + \frac{(m-1)^2 V_r^2}{\phi_r}}$$

2-2-8. 統計解析

統計解析には前章に用いた Graphpad Prism version 5.0 ソフトウェアを使用した。直線性においてはピアソンの相関係数を求め、有意水準として $p < 0.05$ を統計学的に有意である、 $p < 0.1$ を有意傾向にあるとした。さらに、真度では両側 95% 信頼区間、精度においては両側 90% 信頼区間を算出した。

第3節 実験結果

2-3-1. 直線性

アムロジピン濃度 50–1000 µg/mL の範囲で各センサー応答値ならびにユークリッド距離と濃度の関係について調べ、Table 6 に相関係数、y-切片、回帰直線の傾きおよび残差平方和を算出し、Fig. 6 および 7 に得られたデータと残差についてプロットした。なお、以下に示す Weber-Fechner の法則によると、人間の感覚量は外部からの刺激量の対数に比例することが示されている⁶⁷⁻⁶⁹。これを電子味覚システムに適用し、不快な味を有するアムロジピンの濃度を刺激量、不快な味の強さを表す指標値として考えるセンサー応答値あるいはユークリッド距離を感覚量とし、直線性の解析においてはアムロジピン濃度を対数值として用いた。

$$E = C \log R$$

E : Index value expressing the intensity of unpleasant taste (不快な味の強さを表す指標値)

C : Constant (定数)

R : Amlodipine concentration (アムロジピン濃度)

Fig. 6 の結果より、アムロジピン濃度の対数值に対し、センサーAHS、PKS、NMS および SCS から得られた応答値との間で相関係数が-0.9 以下の強い負の相関、センサーCTS の応答値ならびにユークリッド距離との間で相関係数が 0.9 以上の強い正の相関を有する良好な直線関係が得られた。一方、センサーCPS ならびに ANS においては、アムロジピン濃度に対する相関性が他のセンサーに比べて低い結果であった。

次に Fig. 7 の残差プロットを確認したところ、センサーAHS、NMS および SCS とユークリッド距離の残差は濃度に対して一定の傾向を示さなかった。しかし、センサーPKS、CTS、CPS および ANS における残差は、アムロジピン濃度 200 µg/mL を境界として減少あるいは増加する傾向にあり、これらセンサーの応答値がアムロジピン濃度に対し依存性を有することが示唆された。

Table 6 Linearity evaluation between logarithmic value of amlodipine concentration and sensor response values of AHS, PKS, CTS, NMS, CPS, ANS and SCS or Euclidean distance

Sensor	Slope	y-intercept	Correlation coefficient	Residual sum of squares
AHS	-491.1	5507.5	-0.9972	1906
PKS	-746.3	429.6	-0.9866	21255
CTS	388.2	-21.9	0.9469	24216
NMS	-753.4	2879.0	-0.9991	1443
CPS	-198.3	1720.0	-0.5026	162052
ANS	-147.2	2354.1	-0.7597	22128
SCS	-482.1	5770.5	-0.9937	4097
Euclidean distance	1040.3	-608.74	0.9978	6567

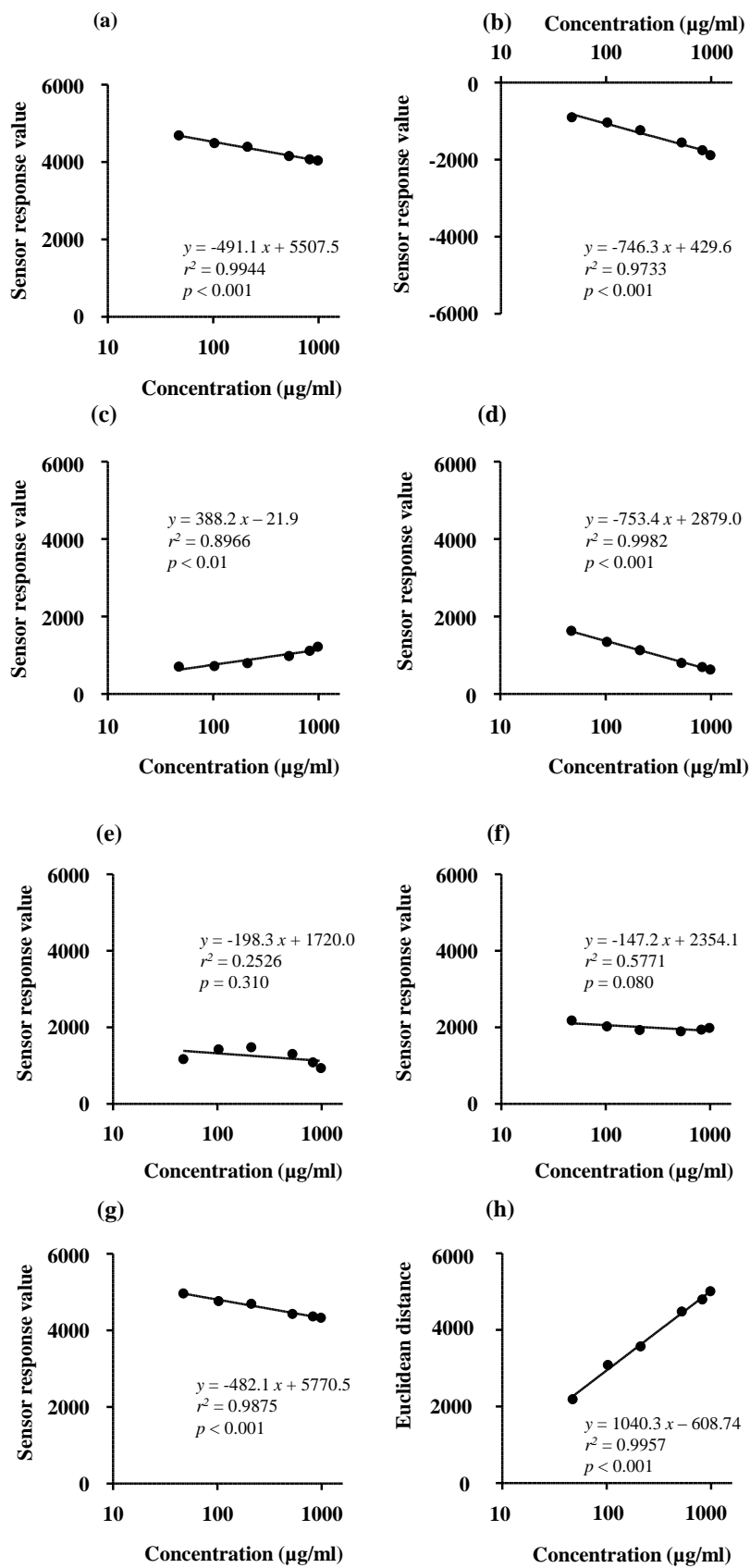


Fig. 6 The relationship between logarithmic value of amlodipine concentration and the sensor response values of AHS (a), PKS (b), CTS (c), NMS (d), CPS (e), ANS (f) and SCS (g) or Euclidean distance (h).

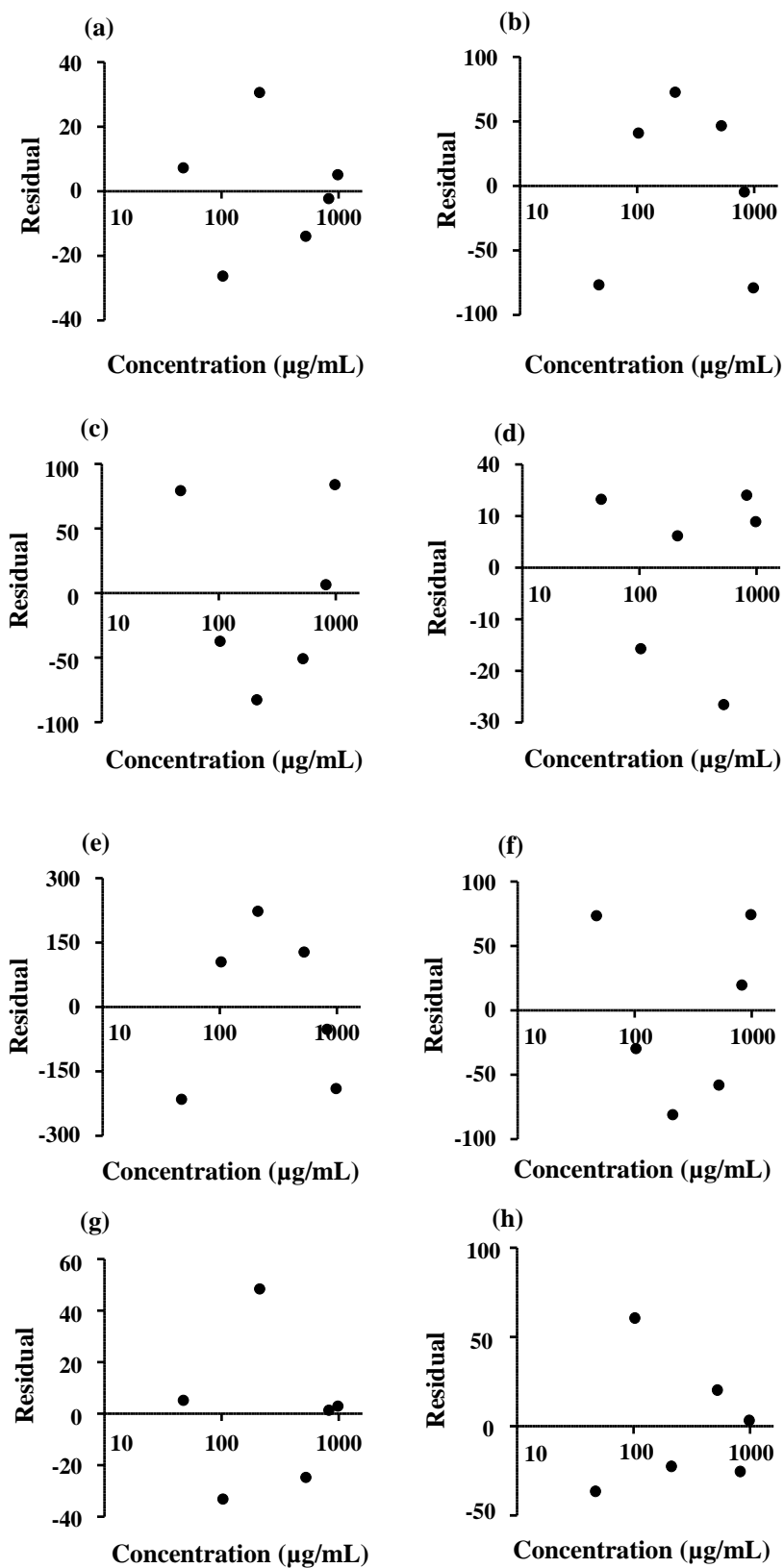


Fig. 7 The relationship between logarithmic value of amlodipine concentration and residual of the sensor response values of AHS (a), PKS (b), CTS (c), NMS (d), CPS (e), ANS (f) and SCS (g) or Euclidean distance (h).

2-3-2. 真度および精度

Table 7 に真度、併行精度および室内再現精度の結果を示した。センサーCPS を除き、真度の推定値は 0.6–5.4%、併行精度は 7.7–22.5%、室内再現精度は 5.6–17.3%であった。センサーCPS は他と比べて大きな値をとる結果が得られた。

Table 7 Results of accuracy, repeatability and inter-day precision

Sensor	Accuracy		Repeatability		Inter-day precision	
	Estimated value (%)	95% CI (%)	Estimated value (%)	90% CI (%)	Estimated value (%)	90% CI (%)
AHS	5.4	0.3 – 10.5	22.3	16.3 – 36.8	17.3	13.1 – 26.2
PKS	1.0	-0.1 – 2.1	18.7	13.6 – 30.7	13.3	9.7 – 21.9
CTS	1.4	-0.3 – 3.0	12.2	8.9 – 20.1	8.9	6.6 – 14.2
NMS	0.2	-0.8 – 1.1	7.7	5.6 – 12.6	5.6	4.1 – 9.1
CPS	94.5	49.5 – 139.4	253.2	184.7 – 416.5	189.0	139.7 – 301.0
ANS	3.0	-3.6 – 9.6	9.5	7.0 – 15.7	11.3	8.6 – 17.1
SCS	1.3	0.4 – 2.2	22.5	16.4 – 37.1	16.0	11.7 – 26.3
Euclidean distance	0.6	-0.2 – 1.4	14.5	10.6 – 23.9	10.3	7.5 – 17.0

第4節 考察

味センサーで製剤の評価を行う場合、薬物だけではなくプラセボ成分も含めた製剤全体で評価を実施することとなる。本章では、アムロジピン ODT をモデル製剤として電子味覚システムの味マスキング効果に対する分析性能の検証を行った。その際、アムロジピン以外の製剤成分で調製したマトリクス溶液を調製し、これを母液として用いた検証実験を実施した。

過去に報告された味センサーに対する分析性能の検証では、特異性、直線性、真度、精度、定量限界ならびに検出限界について検討されていた^{62, 63}。分析時に HPLC を用いる場合、特異性の観点より測定検体中に含まれる各成分が分離された上で測定されることになるが、測定検体の味覚を評価するために用いられる味センサーにおいては、特定の物質に着目するのではなく、測定検体を構成する全成分に由来する味を反映した評価結果が求められる。つまり、HPLC のような特異性は求められないため、本章における検証項目からは省くこととした。また、今回は直線性の範囲濃度内で検証を行うため、定量限界ならびに検出限界についても検証項目より省いた。

まず、直線性について確認を行った。Fig. 2 の溶出プロファイルより、エチルセルロースコーティング量が 10 % になると溶出率が低下傾向にあったため、高い味マスキング効果は期待できるものの、薬物溶出への影響が懸念されるコーティング量であると推察された。コーティング量が 10 % のアムロジピン ODT をヒトが服用した際の 30 秒後の口腔内薬物溶出率は、Fig. 3 (d) より 9.1 % であった。そこで、これを最低濃度として、口腔内薬物溶出率として 9–180% に相当する 50–1000 $\mu\text{g/mL}$ の濃度範囲で直線性について確認した。その結果、アムロジピン濃度の対数値に対し、センサー AHS、PKS、NMS および SCS は強い負の相関を有する直線関係、センサー CTS とユークリッド距離は強い正の相関を有する直線関係を得ることができた。センサー ANS ならびに CPS は、他のセンサーに比べて相関係数が低く、さらに両者における p 値は順に 0.080、0.310 であり、ANS は有意傾向、CPS は有意でないという結果となり、その他のセンサーと比較して良好な直線関係は得られなかった。一方、残差プロットの結果より、センサー PKS、CTS、CPS および ANS は、アムロジピン濃度の対数値に対してセンサー応答値が依存性を有する可能性のある結果となり、これらのセンサーより得られた直線回帰式が妥当でないことが示唆される結果となった。さらに、傾きの大きさを比較したところ、アムロジピン濃度の対数値に対する傾きはユークリッド距離で最も大きく、アムロジピン濃度に対する応答性（感度）が最も高いと考えられた。よって、センサー応答値ではなく、ユークリッド距離に着目して評価を行う方がサンプル間の違いを最も高感度で検出することができると思われる。

次に、3 濃度（50 $\mu\text{g/mL}$ 、100 $\mu\text{g/mL}$ 、500 $\mu\text{g/mL}$ ）のアムロジピン溶液を用い、濃度（3 種類）と試験日（3 日間）を変動因子とした二元配置による実験計画を組み、真度、併行精度ならびに室内再現精度の評価を行った。ユークリッド距離に着目すると、真度の推定値は 0.6%、その 95% 信頼区間は -0.2–1.4% であった。この値は、電子味覚システムから予測したアムロジピン溶液濃度を回収率に換算した場合のずれを表している。電子味覚システムで測定する際のアムロジピン溶液濃度が 500 $\mu\text{g/mL}$ である場合、1.4% のずれはアムロジピン溶液濃度に換

算して 7.0 $\mu\text{g/mL}$ となる。この濃度をアムロジピン溶出率に換算すると 1.3% となり、第 3 章における味覚官能試験結果より得られた口腔内アムロジピン溶出率と VAS の関係より、VAS に換算すると 2.0 となり非常に低値であった。VAS におけるこの程度の値は誤差範囲であると考えられ、真度としては問題の無い結果であると考えられた。また、併行精度と室内再現精度について確認をしたところ、直線性における残差プロットにて回帰式の妥当性が懸念されたセンサー PKS、CTS、ANS を除き、センサー NMS に比べて若干高い値はとるものの、比較的 low 値をとった。よって、ユークリッド距離による評価を行うことでバラツキの抑えられる測定結果が得られると考えられた。

一方、各センサーに着目をしたところ、センサー NMS で良好な直線性が得られた。真度と精度をユークリッド距離と比較したところ、真度は同様な結果となった一方、精度についてはユークリッド距離よりも小さくなる結果を得た。よって、センサー NMS を用いた評価も選択肢として考えられたが、電子味覚システムはセンサー各々に特徴を持たせるのではなく、7 本のセンサーが相互に補完し合ってサンプルの評価を行う機構となっている。よって、センサー NMS で確認された結果は、今回モデルとして使用したアムロジピンで限定的に得られた可能性もあり、センサー 7 本を組み合わせた解析を行うユークリッド距離の観点から評価を行う方が望ましいと考えられた。

以上、電子味覚システムに対して分析性能を検証した結果、良好な直線性が得られ、測定によるずれが少なく、なおかつバラツキも小さいと推察されたユークリッド距離を用いた解析法が、電子味覚システムを用いたアムロジピン ODT の服用感評価に適すると考えられる結果を得ることができた。また、薬物以外の成分が含まれている製剤の状態でも味マスキング効果を十分に評価できる分析性能が電子味覚システムに備わっていることを、アムロジピン ODT をモデルとして示すことができた。

第3章 味マスキング効果評価法によるアムロジピン口腔内崩壊錠の服用性評価

第1節 緒言

第2章では、電子味覚システムを用いてアムロジピン ODT の味マスキング効果を評価することを目的として、その分析性能に関する検証を行った。その結果、電子味覚システムが味マスキング効果を評価する分析性能を十分に有していることを明らかにし、ユークリッド距離解析による評価が最も有用であり、センサーNMS の応答値を用いる解析も可能性があることを確認した。

そこで本章では、第1章の検討より得られたヒト口腔内の薬物溶出を最も模倣する試験時間30秒のトリコープテスト法、ならびに電子味覚システムを組み合わせた味マスキング効果評価法を用い、エチルセルロースコーティングによる物理的マスキング、ならびに甘味剤であるアスパルテームによる官能的マスキングの効果を変化させて製造した16種の異なる味マスキング効果を有するアムロジピン ODT の評価を行った。その中の6種のアムロジピン ODT に対しては健康成人を対象とした味覚官能試験を実施し、服用時および服用後における服用感をVASにより評価した。得られたVAS値を用い、ユークリッド距離解析、ならびにセンサーNMSの応答値を用いて総合服用感を予測するモデル式を構築した。また、これらの解析方法に加え、Nakamuraらが実施していた7本のセンサー応答値を用いたPLS解析による予測も合わせて実施した⁵⁸⁾。PLS解析は、センサー応答値を説明変数とした場合にそれを直接回帰分析に用いるのではなく、目的変数であるVAS値との共分散の大きい潜在変数を用いて回帰分析をする手法である。これらの解析法の妥当性を検証するためにクロスバリデーションを実施するとともに、得られた服用感予測モデル式に従って16種のアムロジピン ODT の予測VAS値を算出し、服用感の予測評価を実施した。これらの検討結果より、電子味覚システムがODTの味マスキング効果に対し実用的な評価方法であるかについて検証をした。

第2節 実験方法

3-2-1. 試料

異なる味マスキング効果を有するアムロジピン ODT を製造するための試料は、1-2-1 に記載の試料に加え、医薬品添加物規格適合品のアスパルテーム（味の素株式会社、東京）を購入した。電子味覚システムで用いる人工唾液を調製するための試料は、2-2-1 と同様のものを用いた。

3-2-2. 異なる味マスキング効果を有するアムロジピン ODT の製造方法

アムロジピンベシル酸塩に対し、エチルセルロースによる物理的マスキング法でアムロジピンマスキング粒子を製する方法は、1-2-2 記載と同様の方法である。本章では電子味覚システムでのユークリッド距離解析を実施するため、各々のアムロジピン ODT に対してプラセボ ODT が必要となる。これに対応するため、アムロジピンベシル酸塩を D-マンニトールに置き換え、それを同様の方法で物理的マスキングを施したプラセボ粒子を製した。またアスパルテームによる官能的マスキングを施す場合は、打錠用顆粒を製する打錠前の混合時にアスパルテームを添加した。打錠工程以降は 1-2-2 と同様の方法で製造を行い、今回製造したアムロジピン ODT の一覧を Table 8 に示した。なお、合わせて製造したプラセボ ODT は対応するアムロジピン ODT の名称の頭文字“A”を“P”に置き換えたものを名称とする。

このうち物理的マスキング効果の違いによる服用感を評価するため、エチルセルロースのコーティング量を変化させた 4 種類のサンプル (A-C0A0、A-C4A0、A-C6A0、A-C10A0) と、物理的マスキングと官能的マスキングを組み合わせた 2 種類のサンプル (A-C6A2、A-C6A4) の合計 6 種類に対し、健康成人を対象とした味覚官能試験を実施した (Table 8 に下線を引いて示した)。なお、Fig. 2 の溶出プロファイルより、コーティング量 10% では低い溶出となり、4% および 6% で溶出に違いが無かったことから、溶出に影響せず、なおかつより高い物理的マスキングの効果を得ることができるコーティング量 6% のマスキング粒子に対し、アスパルテームによる官能的マスキングを実施することとした。

Table 8 Amlodipine ODTs used in the electronic gustatory test and the human gustatory sensation test

		Physical masking by ethyl cellulose coating (%)				
		0	2	4	6	10
Organoleptic masking by aspartame (%)	0	<u>A-C0A0</u>	A-C2A0	<u>A-C4A0</u>	<u>A-C6A0</u>	<u>A-C10A0</u>
	0.5	A-C0A0.5	-	A-C4A0.5	-	-
	1	A-C0A1	-	-	-	-
	2	A-C0A2	-	A-C4A2	<u>A-C6A2</u>	A-C10A2
	3	A-C0A3	-	-	-	-
	4	A-C0A4	-	A-C4A4	<u>A-C6A4</u>	-

The amount of ethyl cellulose and aspartame was expressed as percentage of the whole amlodipine ODT. Underlined samples were applied to human gustatory sensation test.

3-2-3. 健康成人による味覚官能試験

3-2-3-1. 対象

Table 8 に示した 6 種のアムロジピン ODT を健康成人 10 名（男性 9 名、女性 1 名、平均年齢 22.7 ± 0.8 歳）に服用させ、味覚官能試験を実施した。本試験における全てのプロトコールは浜松医科大学臨床研究倫理委員会に承認され、UMIN 臨床試験登録システムに登録された（登録番号：UMIN000030831）。被験者に対して、本研究の目的、方法、予測される効果について説明を行い、文書同意を得た。

3-2-3-2. 試験方法

Fig. 8 に本試験の実施手順について示した。試験は単盲検ランダム化クロスオーバー法により行った。被験者は初回試験開始の 15 分前にミネラルウォーターで口を漱ぎ、試験者の合図とともに被験 OD 錠を口に含み、服用中ならびに服用 30 秒後に吐き出した後の苦味、甘味、および総合服用感を VAS にて評価した。VAS は、100 mm スケールのスコアシートを用い、各評価項目について最も強く感じる時を 100 として、評価時点で感じた感覚の強さを直感的に 100 mm の直線上に記入する方式であり、0 からの距離を各々の評価項目の VAS スコアとした (Fig. 9)。その後、被験者は口腔内を 150 mL のミネラルウォーターで 1 回漱ぎ、次の試験に備えた。なお、各被験 OD 錠の評価は、直前の試験で OD 錠を服用してから 20 分の間隔をあけた。

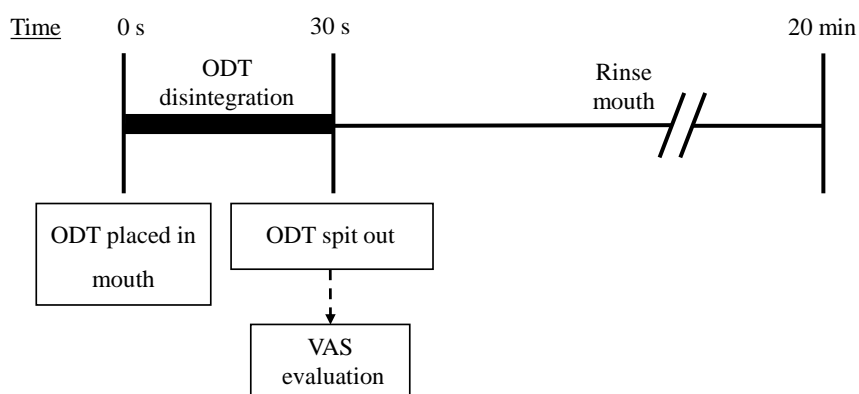


Fig. 8 Schematic procedure of human gustatory sensation test.

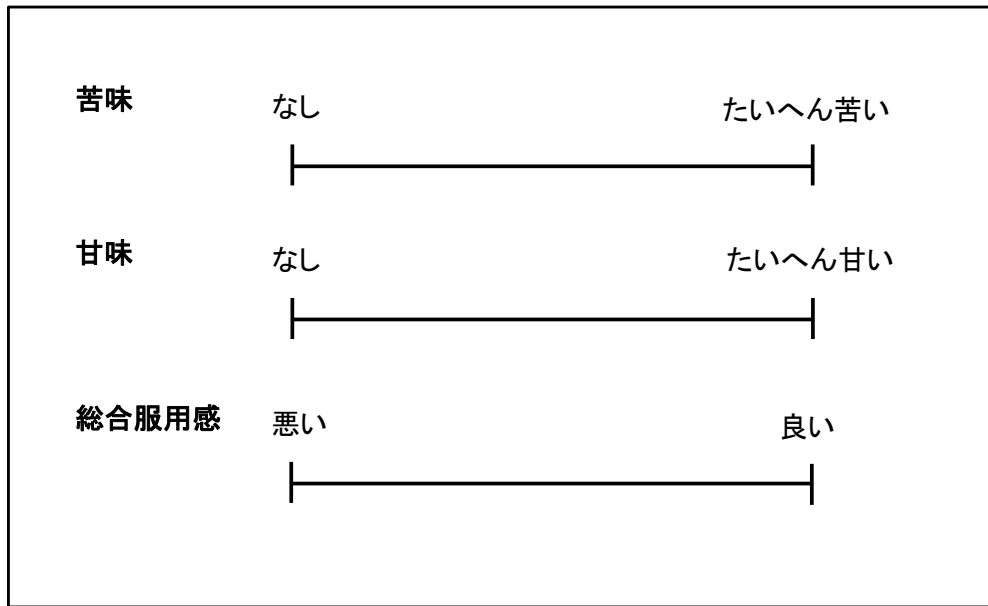


Fig. 9 Visual analogue scale scoring sheet for human gustatory sensation test.

3-2-4. 電子味覚システムによる測定と評価

3-2-4-1. トリコープテスト法による検体調製

装置ならびに人工唾液の調製方法は 1-2-3-2、試験時の人工唾液流速は 1-2-5-1 に記載と同じである。試験時間を 30 秒に設定し、試験開始後、被験 ODT が崩壊して上下のメッシュ板が重なっても、試験終了まで人工唾液を滴下した。試験終了後、速やかに試験液を回収し、1-2-5 に記載の手順でろ過を行った。この試験を 6 回 (1 回 1 錠) 行い、ろ過後の試験液 7.5 mL に精製水を加えて 30 mL に希釈した溶液を電子味覚システム用の測定サンプルとした。

3-2-4-2. 電子味覚システムによる測定法

3-2-4-1 に記載の方法で測定サンプルを調製した後、電子味覚システムで測定を行った。測定方法は 2-2-5 に記載のものと同一である。ユークリッド距離解析を行うために、各アムロジピン ODT に対応するプラセボ ODT も、3-2-4-1 の方法で測定サンプルを調製した。なお、電子味覚システムにおける測定時は、プラセボ ODT のサンプル溶液はそれに対応するアムロジピン ODT のサンプル溶液の直前に配置した。

3-2-5. 服用感予測モデル式とその妥当性の検証

3-2-5-1. センサー応答値ならびにユークリッド距離解析による服用感予測モデル式

電子味覚システムによる味マスキング効果の評価を考えた場合、第 2 章の結果より、センサー NMS の応答値、ならびにユークリッド距離に着目した評価が有用であると考えられた。よって、これらに着目した服用感予測モデル式の算出を行った。ユークリッド距離は、2-2-6 に示した方法で算出を行うが、電子味覚システムが有する 7 本のセンサーは測定サンプルに対して互いに異なる選択性を有している。測定後は各サンプルに対して 7 種のセンサー応答値が得られるため、そのデータは高次元で複雑なものとなる。そこで、各サンプル間の比較を容易とするために、得られた 7 種のデータを 2 次元等の新たな低次元空間に落としこんで各サンプル間の比較をシンプル化する主成分分析 (Principal Component Analysis) を行った。主成分分析では、各データ群における分散が最大となる共通の座標軸を求めていく。分散が最も大きくなる共通の座標軸を第 1 主成分 (PC-1) 軸、PC-1 軸と直行しデータの分散が次に大きくなる共通座標軸を第 2 主成分 (PC-2) 軸として定め、これらで形成する新たな 2 次元空間に各サンプルをプロットすることにより、サンプル間の比較がビジュアル的にも容易となり、サンプル間の違いやその距離関係もイメージしやすくなる。主成分分析は、各サンプル間の距離とユークリッド距離との差が最も小さくなるよう行われるため、ユークリッド距離解析の際に主成分分析による 2 次元マップも示すようにした。

3-2-5-2. PLS 解析による服用感予測モデル式

解析ソフト JMP10.0.2 (SAS Institute Japan 株式会社、東京) を用い、味覚官能試験を実施した 6 種類のアムロジピン ODT から得られた総合服用感を表す VAS を目的変数とし、電子味覚システムによる測定で得られた 7 種のセンサー応答値を説明変数として、PLS 解析による服用感予測モデル式を算出した。重回帰分析の場合、因子 x_i ($i=1, 2, \dots, n$) を説明変数として直接回帰分析に用いることになるが、因子間の相関性が高い場合には多重共線性の影響で正しく解析ができない可能性がある。一方、PLS 解析は因子 x_i を説明変数として直接回帰分析には用いず、新たな潜在変数 T を説明変数として目的変数 Y への回帰分析を行う手法である。PLS 解析のモデルを以下に示した。

$$Y_i = \beta_0 + \sum_{k=1}^r \beta_k T_{ik} + E_i \quad (i = 1, 2, \dots, n)$$

$$T_{i1} = c_{11}x_{i1} + c_{12}x_{i2} + \dots + c_{1m}x_{im}$$

$$T_{i2} = c_{21}x_{i1} + c_{22}x_{i2} + \dots + c_{2m}x_{im}$$

...

$$T_{ir} = c_{r1}x_{i1} + c_{r2}x_{i2} + \dots + c_{rm}x_{im}$$

β_0 : 回帰定数 (Constant term)

β_k : 偏回帰係数 (Partial regression coefficient)

T_{ir} : 潜在変数 (Latent variable)

E_i : 残差 (Residual)

c_{rm} : 係数 (Coefficient)

x_{ik} : 因子 (Factor)

i : サンプル数 (Number of samples)

k : 因子 x の数 (Number of factors)

r : 潜在変数 T の数 (Number of latent variables)

3-2-5-3. 服用感予測モデル式の妥当性検証方法

センサーNMS の応答値を用いた解析、ユークリッド距離解析、ならびに PLS 解析により求めた服用感予測モデル式の妥当性を検証するために、クロスバリデーションを行った。味覚官能試験を実施した 6 種のアムロジピン ODT の中から 1 つの ODT を除き、残り 5 種の ODT の VAS 値に対して回帰分析を行うことで得られた回帰式を用いて除いた ODT の予測 VAS を算出した。この予測値と味覚官能試験による VAS スコアとの間の残差を求め、これを 6 種全てのアムロジピン ODT に対して実施し、求めた予測 VAS スコア (VAS_{pred}) と味覚官能試験における VAS スコア (VAS_{clin}) の残差について、以下の式に従って平均予測誤差 (MPE)、平均絶対誤差 (MAE) および平均二乗誤差平方根 (RMSE) を算出した。

$$\text{平均予測誤差 (MPE)} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (VAS_{pred} - VAS_{clin})$$

$$\text{平均絶対誤差 (MAE)} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n |VAS_{pred} - VAS_{clin}|$$

$$\text{平均二乗誤差平方根 (RMSE)} = \sqrt{\frac{1}{n} \left(\sum_{i=1}^n (|VAS_{pred} - VAS_{clin}|)^2 \right)}$$

VAS_{pred} : 予測 VAS 値 (Predicted visual analogue scale)

VAS_{clin} : 味覚官能試験 (臨床試験) における VAS 値 (Clinical visual analogue scale)

3-2-6. 電子味覚システムによる服用感の予測

本章では、味覚官能試験を実施した 6 種類以外に 10 種類のアムロジピン ODT を製造した (Table 8)。これら 16 種類に対し、センサーNMS の応答値によるモデル、ユークリッド距離解析によるモデル、および PLS 解析によるモデルを用いて服用感の予測を行った。センサーNMS の応答値、ならびにユークリッド距離解析によるモデルは 3-2-5-1、PLS 解析によるモデルは 3-2-5-2 で導いた予測式を用い、今回製造した 16 種類のアムロジピン ODT の予測 VAS スコアを算出した。

3-2-7. 統計解析

味覚官能試験より得られた VAS 値の各データは平均値 \pm 標準偏差で表示した。統計解析は Graphpad Prism version 5.0 ソフトウェアを用いて行った。直線回帰においてはピアソンの相関係数を求め、有意水準として $p < 0.05$ を統計学的に有意である、 $p < 0.1$ を有意傾向にあるとした。

第3節 実験結果

3-3-1. VASによるアムロジピン ODT の服用性評価

Fig. 10 に ODT 服用中、ならびに吐き出し後の苦味、甘味、および総合服用感に対する VAS スコアを示した。まず、物理的マスキング法による味マスキング効果を確認するために、C0A0、C4A0、C6A0、および C10A0 の間で VAS スコアを比較したところ、コーティング量の増加に依存して苦味は減少し、総合服用感は増加した。甘味については、顕著な差は認められなかった。一方、物理的マスキングと官能的マスキングを施した C6A2 と C6A4 は、アスパルテームを含まない C6A0 に比べて甘味と総合服用感の VAS スコアが増加したが、両 ODT 間に有意な差異は認められなかった。また、苦味の VAS スコアは C6A0、C6A2 および C6A4 の3 製剤間で違いは無かった。これらを C10A0 の総合服用感と比較したところ、アスパルテームを含む C6A2 と C6A4 で同様の VAS 値が得られた。

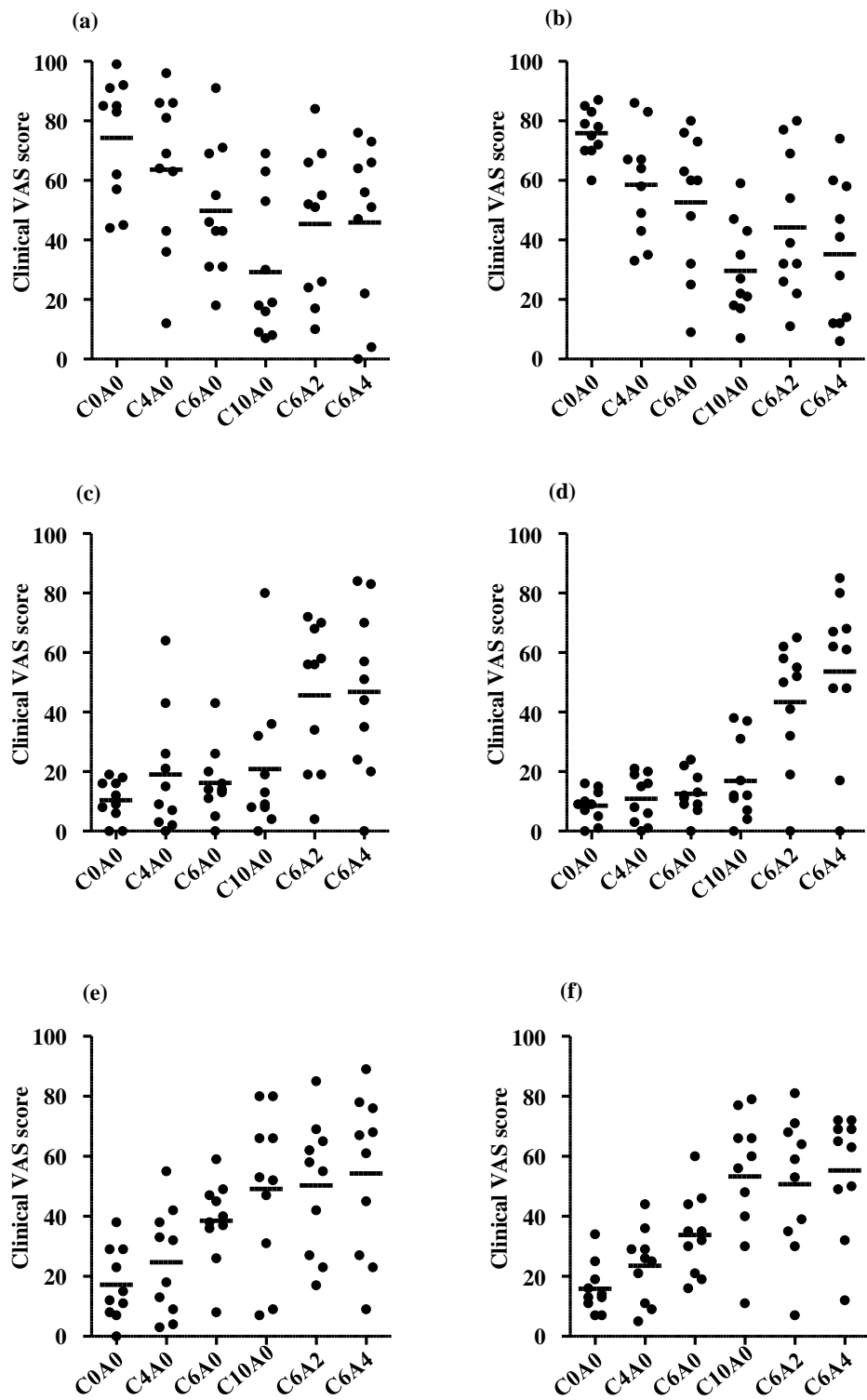


Fig. 10 Clinical VAS scores of bitterness (a, b), sweetness (c, d) and overall palatability (e, f) during disintegration (a, c, e) and after spitting out (b, d, f) in amlodipine ODTs (C0A0, C4A0, C6A0, C10A0, C6A2, C6A4). Horizontal line indicates the mean value of clinical VAS (n = 10).

3-3-2. センサー応答値とユークリッド距離解析での評価

味覚官能試験を実施した6種類のアムロジピン ODT を電子味覚システムで測定し、各 ODT より得られたセンサー応答値に対して主成分分析を行った。それにより得られた2次元マップを Fig. 11 に示したところ、PC-1 軸の寄与率は 84.0%、PC-2 軸の寄与率は 12.9%であった。また、PC-1 軸に着目した場合、各アムロジピン ODT が右側、プラセボ ODT が左側に位置し、味マスキングを行っていない A-C0A0 が最も右側に位置していることから、PC-1 軸はアムロジピンに由来する不快な味の強度を表す軸であると推察された。

次に、センサーNMS の応答値とユークリッド距離の結果を Fig. 12 に示した。物理的マスキングの効果を確認するためにエチルセルロースコーティング量を変化させた4種の ODT は、コーティング量の増加に従ってセンサー応答値 NMS は増加傾向にあり、その値は A-C0A0、A-C4A0、A-C6A0 および A-C10A0 の順に 1327.83、1671.73、1816.77 および 2083.59 であった。ユークリッド距離も同様に 1500.76、1004.90、1044.35 および 569.35 となり、A-C4A0 と A-C6A0 の間に差は無いもののコーティング量に依存して減少する傾向にあった。次に、物理的マスキングと官能的マスキングを組み合わせた A-C6A2 および A-C6A4 では、センサーNMS の応答値が順に 1716.12 および 1646.16、ユークリッド距離が順に 969.10 および 925.51 となり、A-C6A2 と A-C6A4 との間に顕著な差は認められなかった。

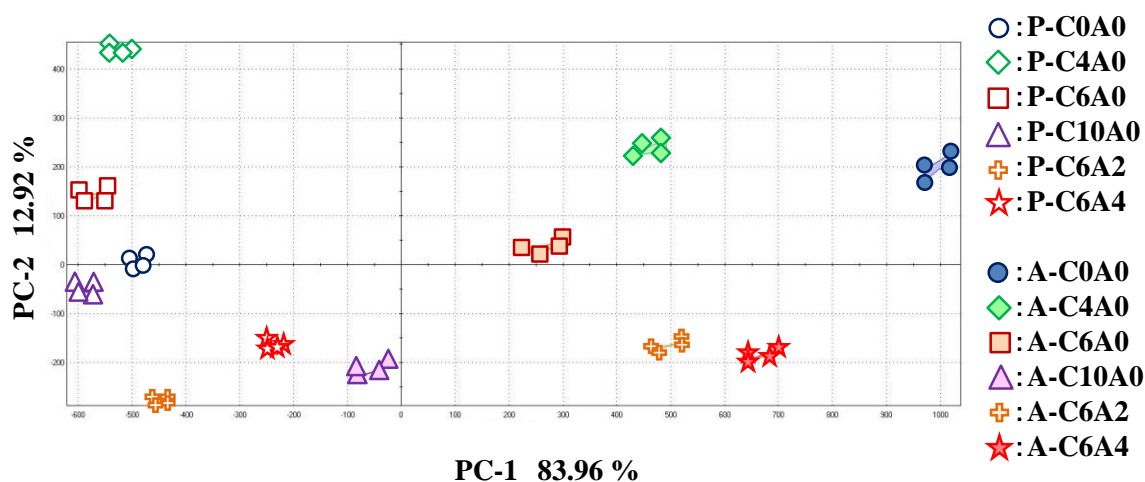


Fig. 11 Principal component analysis (PCA) map of amlodipine ODTs manufactured using different masking methods and their placebo ODTs.

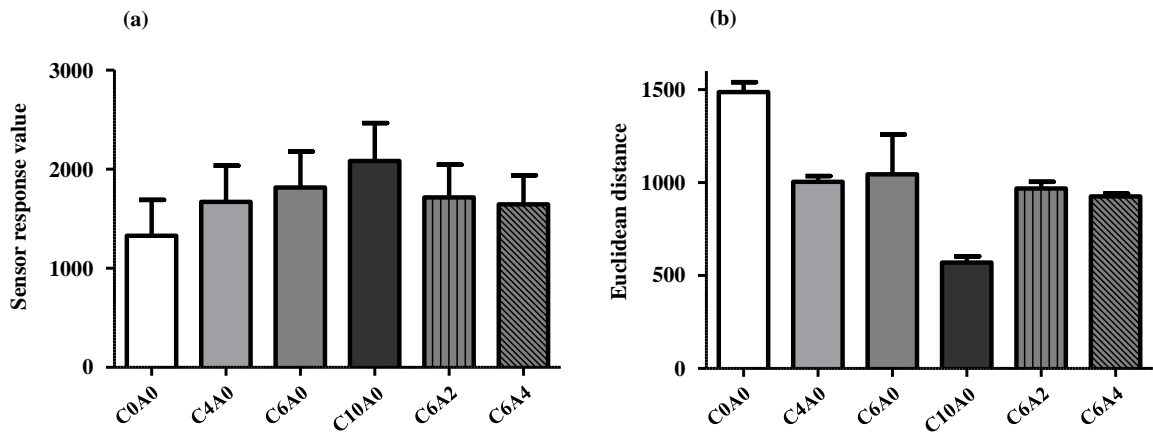


Fig. 12 Sensor response values of NMS (a) and Euclidean distance (b) of amlodipine ODTs manufactured using different masking methods (mean \pm SD, n = 3).

3-3-3. センサー応答値およびユークリッド距離と味覚官能試験による VAS 値との比較

服用後のアムロジピン ODT の総合服用感を予測するために、Fig. 10 (f)で示した味覚官能試験により得られた 6 種のアムロジピン ODT の VAS 値に対し、電子味覚システムによる測定で得られたセンサー-NMS の応答値ならびにユークリッド距離の関係を Fig. 13 に示した。その結果、決定係数 r^2 値はそれぞれ 0.4116 および 0.6140 であり、ユークリッド距離においては p 値が 0.065 であることから、VAS 値との間の相関関係に有意傾向のあることが示された。

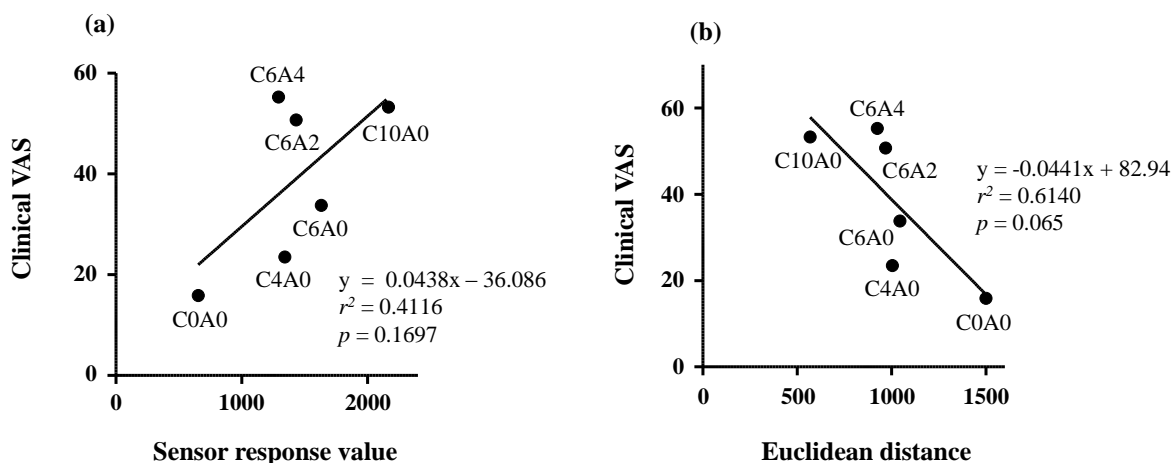


Fig. 13 The relationship between sensor response value of NMS (a), Euclidean distance (b) and clinical VAS score of overall palatability.

Each data represents the mean of clinical VAS score for C0A0, C4A0, C6A0, C10A0, C6A2 and C6A4 ($n = 3$). Clinical VAS scores of overall palatability obtained by the human gustatory sensation test were referred from Fig. 10 (f).

3-3-4. PLS 解析より得られた服用感予測モデル式

電子味覚システムによる7種のセンサー応答値を用いて PLS 解析を行い、得られたモデルから算出される予測 VAS 値と味覚官能試験で得られた VAS 値の関係を確認したところ、決定係数 r^2 値は 0.9798 であった (Fig. 14)。

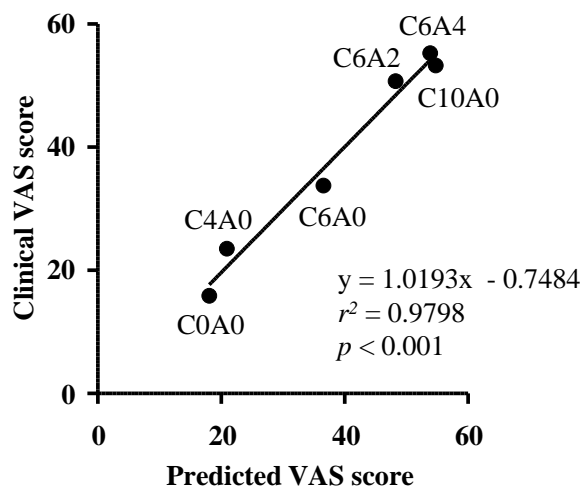


Fig. 14 The relationship between the predicted VAS score using PLS regression analysis and clinical VAS score obtained by the human gustatory sensation test.

Each data represents the mean of clinical VAS score for C0A0, C4A0, C6A0, C10A0, C6A2 and C6A4. Clinical VAS scores of overall palatability obtained by the human gustatory sensation test were referred from Fig. 10 (f).

3-3-5. 服用感予測モデル式の妥当性検証

3-3-3 および 3-3-4 より得られた 3 種の服用感予測モデル式に対し、予測式としての妥当性を検証するためにクロスバリデーションを行った。Fig. 15 に、クロスバリデーションの適用により算出した各 ODT の味覚官能試験と予測による VAS 値の残差 ($VAS_{clin} - VAS_{pred}$) をプロットした。また、Table 9 に得られた残差を用いて算出した MPE、MAE および RMSE を示した。センサーNMS の応答値、ユークリッド距離解析および PLS 解析の順で残差の最大絶対値、ならびに RMSE を比較したところ、残差の絶対値は 23.6、18.2、18.2 となり、RMSE は 15.8、12.2、9.4 となった。センサーNMS の応答値を利用したモデルは、残差の最大絶対値と RMSE が最も大きかったため、3-3-6 ではユークリッド距離解析と PLS 解析による服用感予測を行った。

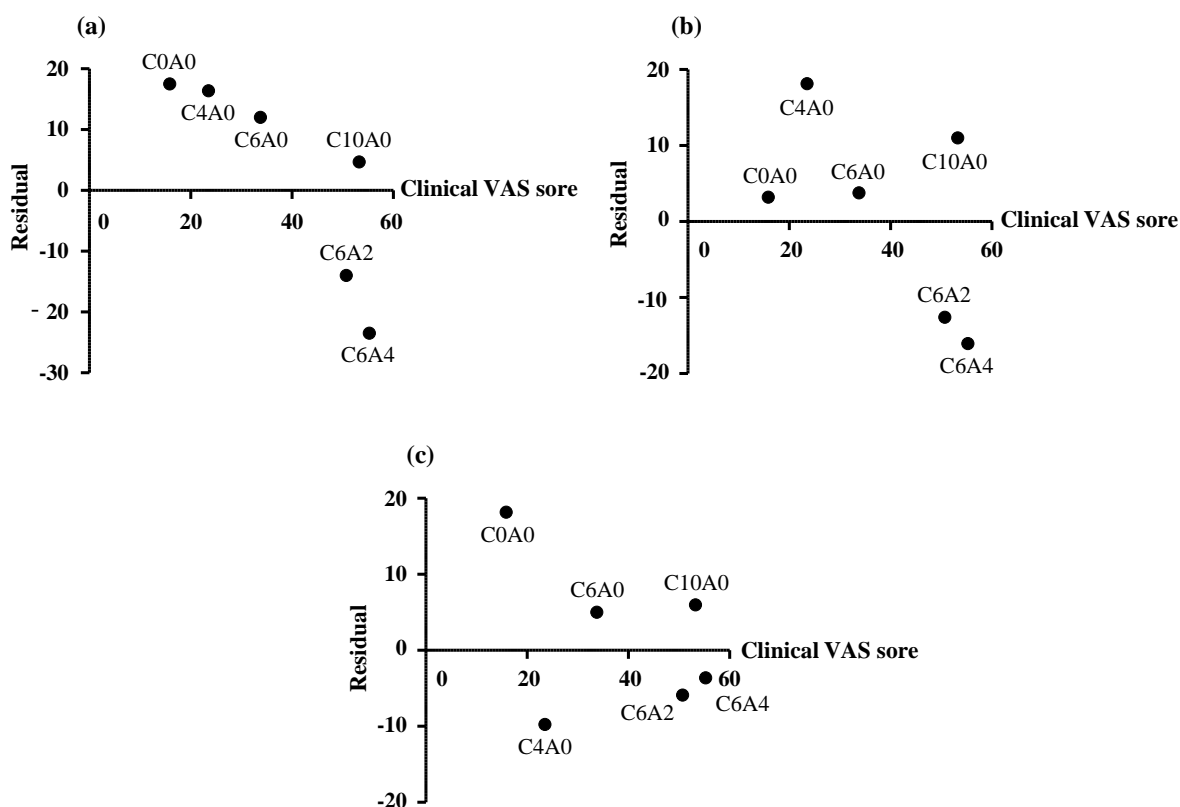


Fig. 15 Residuals between clinical VAS scores of overall palatability and the predicted VAS scores using sensor response value analysis (a), Euclidean distance analysis (b) and the PLS regression analysis (c) in amlodipine ODTs.

Table 9 Verification of the validity of the sensor response value analysis, Euclidean distance analysis and the PLS regression analysis

	Sensor response value analysis	Euclidean distance analysis	PLS regression analysis
MPE	2.19	1.26	1.66
MAE	14.72	10.80	8.06
RMSE	15.79	12.19	9.43

MPE, mean prediction error ; MAE, mean absolute error and RMSE, root mean squared error.

3-3-6. 服用感予測モデル式を用いた服用感予測結果

3-3-5の結果を受け、ユークリッド距離解析およびPLS解析により求めた服用感予測モデル式を用い、Table 8で示した16種類のアムロジピンODTを電子味覚システムで測定することによって予測VAS値を求めた(Fig. 16)。その結果、両解析による予測VAS値は、エチルセルロースによるコーティング量の増加に伴い大きくなる傾向にあった。一方、アスパルテーム量が増加した場合の予測VAS値は、ユークリッド距離解析においてはわずかな増加傾向しか見られなかったが、PLS解析ではアスパルテームの増加量に依存した予測VAS値の上昇が認められた。

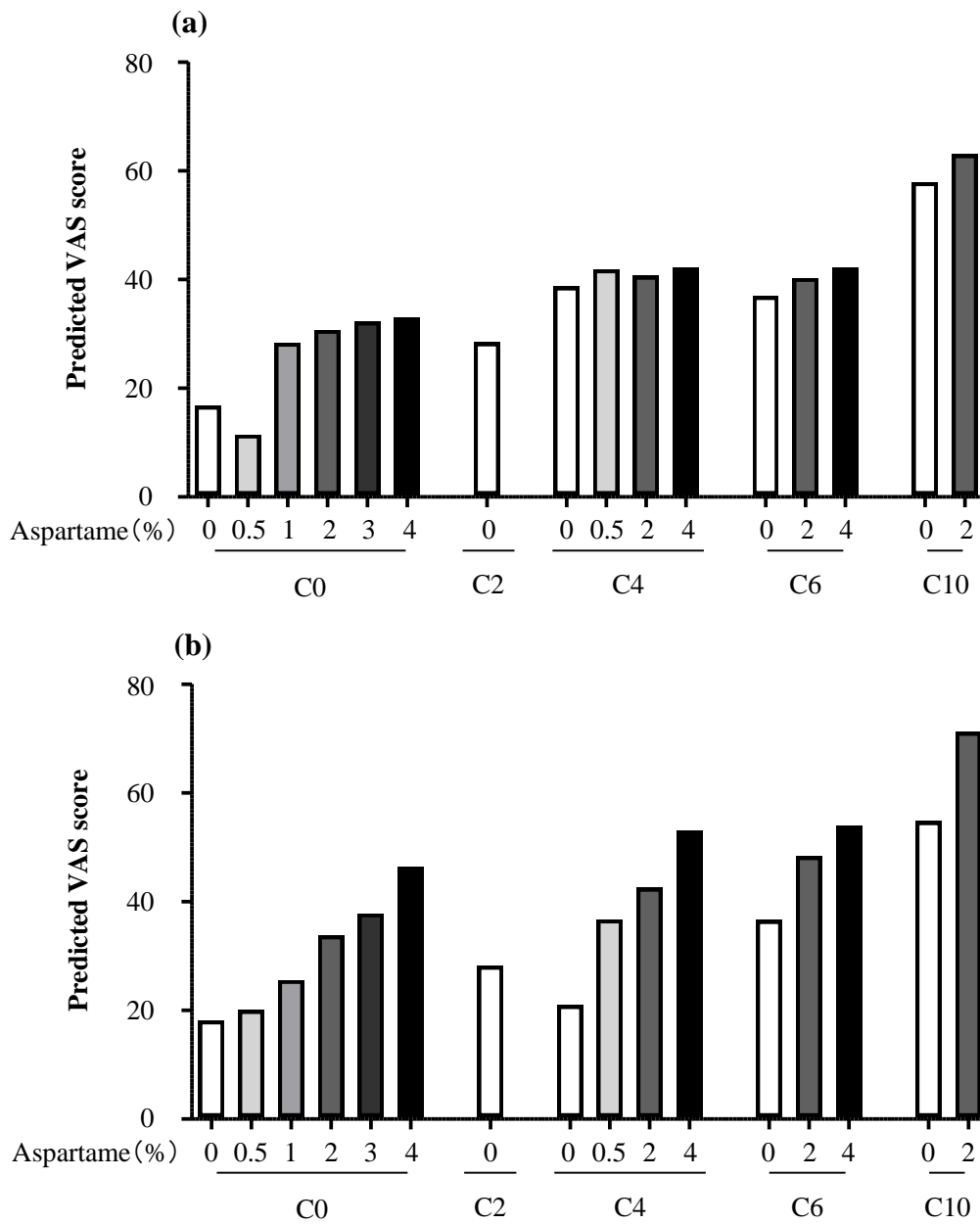


Fig. 16 The predicted VAS score of amlodipine ODTs manufactured using different masking methods by Euclidean distance analysis (a) and PLS regression analysis (b).

第4節 考察

本章では、異なる味マスキング効果を有するアムロジピン ODT に対して電子味覚システムによる測定とヒトによる味覚官能試験を実施し、両者間の結果を比較することによって、電子味覚システムによる服用感の予測性ならびに評価方法としての実用性について検証を行った。

まず、6 種類のアムロジピン ODT を用いて健康成人 10 名での味覚官能試験を実施したところ、エチルセルロースによるコーティング量の増加に伴い、総合服用感に対する VAS 値は増加し、服用感の向上が認められる結果を得た。また、コーティング量 6% の ODT に対してアスパルテームを 2% および 4% を加えることで VAS 値が増加し、コーティング量 10% の ODT の VAS 値と同様になる結果が得られたことから、アスパルテームと組み合わせることで服用感の向上が可能であることを確認できた。また、アスパルテーム 2% と 4% で VAS 値に顕著な増加が認められなかったことから、アスパルテームは一定量以上を添加すると味マスキングに対する効果が徐々に小さくなると推察された。

次に、味覚官能試験により得られた 6 種のアムロジピン ODT の VAS 値に対し、電子味覚システムによる測定で得られたセンサー NMS の応答値ならびにユークリッド距離の関係から求めた服用感予測モデル式、ならびに 7 本のセンサー応答値を用いた PLS 解析による服用感予測モデル式を導き、そのモデルの妥当性をクロスバリデーションにより検証した。その結果、PLS 解析によるモデルにて残差の最大絶対値と RMSE が最も小さく、モデル回帰直線の r^2 値が 0.9798、 p 値も < 0.001 で有意であったことから、予測モデルとして最も適していると考えられた。また、ユークリッド距離解析によるモデルも、残差の最大絶対値と RMSE が比較的小さく、 r^2 値が 0.6140、 p 値も 0.065 で有意傾向にあったことから予測モデルとして使用できる可能のあることが推察された。これらの結果は、Nakamura⁵⁸⁾らの研究と同様の傾向であった。

次に、服用感予測を行うことによって両モデル式の予測精度について検証した。まず、Fig. 16 に示した 16 種類のアムロジピン ODT の服用感予測で PLS 解析に着目すると、アスパルテームを添加していない場合、C4 までは同程度の予測 VAS 値であり、C6 以降はコーティング量に依存して予測 VAS 値が増加する傾向にあった。各コーティング量においては、アスパルテームの添加によって予測 VAS 値の増加が認められた。これらの結果より、PLS 解析による予測モデルを用い、コーティングによる物理的マスキングと甘味剤による官能的マスキングの評価が可能であると考えられた。一方、コーティング 4% まではアスパルテームの添加量に依存して予測 VAS 値が増加する傾向にあったが、コーティング 6% では、アスパルテーム添加量が増加すると予測 VAS 値の増加率が緩やかとなった。コーティング量が 0%、4% ならびに 6% におけるアスパルテーム量 2% から 4% に増加させた際の予測 VAS 値の増加率は順に 37.1%、27.7%、11.6% であった。このことから、コーティング量の増加に伴いアスパルテームの効果が徐々に小さくなることが示唆され、これは実測 VAS 値とも同様な結果であった。本研究で服用後の総合服用感評価に使用した VAS は、100 mm スケールで感覚の強さを直感的に評価する方法であり、その値には上限がある。不快な総合服用感が良好に改善された場合、

その効果を大きく感じられるが、良好な総合服用感の場合に更なる味マスキングを行ってもその効果は小さいと思われ、VAS 値の増加も緩やかになると推察された。今回、コーティング量 6%にアスパルテームを 2%添加することで、アスパルテーム量 0%より総合服用感は増加したが、アスパルテーム量 4%では顕著な効果は認められなかった。よって、コーティング量 6%においてはアスパルテーム量 2%以上であれば味マスキング効果に違いが無いと考えられ、これらの結果が実測 VAS 値に反映され、さらに PLS 解析による予測 VAS 値にも同様な結果が得られたことから、PLS 解析による予測精度の高さが示された。これに対し、ユークリッド距離解析は、PLS 解析に比べ、特にアスパルテームの添加量に対する予測 VAS 値の変動量が小さく、その感度が低い結果であったことから、予測モデル式のクロスバリデーション結果も考慮すると PLS 解析に比べて予測精度は低いと考えられた。

以上、異なる味マスキング効果を有するアムロジピン ODT を用い、電子味覚システムにて PLS 解析による服用感予測評価を行ったところ、エチルセルロースによる物理的マスキング、ならびにアスパルテームによる官能的マスキングの効果を確認することができた。さらに、物理的マスキングの効果が高いほど、アスパルテームによる官能的マスキングの効果は緩やかになることがわかり、これを電子味覚システムで確認することができた。本検討結果より、トリコープテスト法で 30 秒の *in vitro* 溶出試験を行い、電子味覚システムでの測定後に PLS 解析を用いて評価するというアムロジピン ODT の味マスキング効果評価法を確立することができた。

総括

ODT は、水なしで速やかに崩壊する高機能な製剤であり、各製薬企業は様々な製剤技術を駆使して開発している^{1, 2, 15)}。特に、不快な味を伴う薬物を含有する ODT では、水不溶性高分子によるコーティングなどの物理的マスキングや、甘味剤やフレーバーを添加する官能的マスキングなどの方法で味マスキング処理が施される。その中でも物理的マスキングはその効果が高く、汎用性の点から多くの ODT に採用されている。物理的マスキングは、口腔内における薬物溶出量が不快な味と感知される閾値量以下とすることを目標に実施される。そのため、口腔内薬物溶出量を評価することは味マスキングの観点から極めて重要であると考えられ、これまでに口腔内薬物溶出量を *in vitro* にて測定する方法がいくつか報告されている。しかしながら、それら *in vitro* での溶出量とヒトの口腔内での溶出量が一致するかについて検証されていないのが現状である。

近年、医薬品の味覚評価に対して味センサーを用いた方法が注目されている。これまでの味センサーを用いた報告は、薬物のみ、あるいは市販製剤に対し、口腔内での溶出を想定しない条件で測定と評価を行うという、ほとんどが比較的単純な系であった。しかし、ODT は様々な成分を含有し、実際の製剤設計では味マスキングに関わる添加物の量を変化させて検討を行うことが一般的である。さらに、ODT の味覚評価では、ヒトの口腔内薬物溶出を可能限り模倣した条件で評価する必要がある。医薬品の製剤開発において、これらの条件を加味した実用的な味センサーによる評価方法の確立が望まれる。

そこで本研究では、不快な味を有するアムロジピンベシル酸塩を含む ODT (アムロジピン ODT) をモデル製剤とし、味センサーを用いた味マスキング効果に対する評価方法の確立を目的とした。

第 1 章では、アムロジピン ODT 服用時のヒト口腔内における薬物溶出を模倣する *in vitro* 溶出試験法について検討を行った。アムロジピンベシル酸塩に対する水不溶性高分子コーティング量が異なるアムロジピン粒子 (コーティング量 : 0、4、6、10%) からなる 4 種類の ODT (C0、C4、C6、C10) を製造した。健康成人 (10 名、平均年齢 22.7 歳) を対象とし、被験 ODT を口腔内で崩壊させた後に口腔内の唾液および錠剤残渣を全て吐き出し、唾液中のアムロジピン溶出率を測定した。本研究は浜松医科大学臨床研究倫理委員会の承認を得た。また *in vitro* 溶出試験法 (トリコープテスト法、攪拌法⁴³⁾、注射筒正倒立法^{36, 38)}、パドル法、振盪法) により 4 種類の被験 ODT からのアムロジピン溶出率を求めた。その結果、ODT 服用後の口腔内薬物溶出率はいずれにおいても経時的に増加した。また、パドル法を除く 4 種類の *in vitro* 溶出試験法においても同様の傾向が認められ、コーティング量増加に伴い溶出率は低下した。30 秒後のヒト口腔内と *in vitro* 溶出試験における溶出率を比較すると、トリコープテスト法においてそれらの差が最小であった。よって、トリコープテスト法がヒトの口腔内における薬物溶出を最も模倣する方法であると考えられた。また、本法が口腔内薬物溶出を調べるための試験法に展開できることが期待される。

第 2 章では、味センサーとして電子味覚システム (α -ASTREE, Alpha M.O.S.社製) を選択し、アムロジピン ODT をモデル製剤として、味マスキング効果を評価するための電子味覚システ

ムの分析性能について検証を行った。アムロジピン ODT の製剤成分からなるマトリクス溶液を調製し、電子味覚システムで評価する際の濃度を考慮した複数のアムロジピン溶液（50–1000 $\mu\text{g/mL}$ ）を調製した。マトリクス溶液に対するアムロジピン溶液のユークリッド距離を各濃度溶液で求め、直線性、真度ならびに精度の面から検証を行った。その結果、ユークリッド距離とアムロジピン溶液の対数濃度値の間に良好な直線関係が認められた。また、真度、併行精度ならびに室内再現精度も低値をとったことから、ユークリッド距離を用いた解析法が、電子味覚システムによる服用感評価に適していると考えられた。

第3章では、第1章における *in vitro* 溶出試験法と電子味覚システムを組み合わせた味マスキング効果評価法を用い、異なる味マスキングを施した16種のアムロジピン ODT に対し、服用後の総合服用感を予測する評価を行った。そのうち、6種のアムロジピン ODT は健康成人を対象とした味覚官能試験を実施した。ユークリッド距離解析、ならびに7本のセンサー応答値を用いた PLS 解析による服用感予測モデル式を用い、実測 VAS 値との差を比較したところ、ユークリッド距離解析と比較して PLS 解析による予測精度の方が高いことが示され、予測モデルに対するクロスバリデーション結果と一致することを確認した。次に、16種類のアムロジピン ODT に対する PLS 解析による服用感予測結果より、コーティングによる物理的マスキングと甘味剤による官能的マスキングの評価が可能であると考えられた。また、物理的マスキングにて不快な味を抑制しているほど、アスパルテームによる官能的マスキングの効果が徐々に小さくなることが示唆される結果を実測 VAS 値より確認し、さらに PLS 解析による予測 VAS 値にも同様な傾向が得られたことから、PLS 解析による予測精度は高さが示された。これに対し、ユークリッド距離解析は、PLS 解析に比べてアスパルテームに対する感度が低く、予測モデル式のクロスバリデーション結果も考慮すると PLS 解析に比べて予測精度は低いと考えられた。以上の結果より、電子味覚システムによる服用感予測では、PLS 解析を用いた服用感予測モデル式を用いることによって服用感の予測が可能であると考えられた。

以上、アムロジピン ODT を用い、トリコープテスト法で30秒の *in vitro* 溶出試験を行い、電子味覚システムでの測定後に PLS 解析を用いて評価するという実用的な味マスキング効果評価方法を確立することができた。本研究で導き出した味マスキング効果評価法はアムロジピン ODT を対象としたものであるが、本評価方法が他の ODT の味マスキング効果を評価する方法として適用されることが期待される。

謝辞

終わりに臨み、本研究に際して終始ご懇篤なるご指導とご鞭撻を賜り、本稿の御校閲をいただきました静岡県立大学大学院薬学研究院 並木徳之教授に深甚なる謝意を表します。

本研究を進めるにあたり、終始親身なるご指導とご鞭撻を賜りました静岡県立大学大学院薬学研究院 内田信也准教授に心より感謝致します。

本論文のご高覧と、ご指導、ご助言を賜りました静岡県立大学薬学部長 大学院薬学研究院 賀川義之教授、静岡県立大学大学院薬学研究院 尾上誠良教授、ならびに静岡県立大学大学院薬学研究院 浅井知浩教授に深く感謝致します。

本研究に際し、多くのご助言ならびにご協力をいただきました静岡県立大学薬学部 柏倉康治講師、田中紫茉莉助教に感謝の意を表します。

また、本研究における臨床試験を実施するに際し、多大なるご協力をいただきました浜松医科大学理事 渡邊裕司教授、浜松医科大学医学部 乾直輝准教授、浜松医科大学医学部 小田切圭一特任准教授、浜松医科大学医学部 袴田晃央助教、ならびに浜松医科大学医学部 神谷千明先生に心より感謝を致します。

本研究の機会を与えてくださり、格別のご配慮を賜りました東和薬品株式会社代表取締役社長 吉田逸郎氏、元専務取締役（現顧問） 大澤孝博士、執行役員製剤技術本部長 藤田茂樹氏、執行役員基盤技術研究所長 奥田豊博士、執行役員研究開発本部長 杉浦健博士、製剤企画部次長 中村豪之博士、ならびに元東和薬品株式会社 取締役製品戦略本部長 沖本和人博士に深く感謝致します。

また、本研究の遂行と論文執筆にあたり、業務面で多くのご配慮ならびにご支援をいただきました東和薬品株式会社製剤研究第一部次長 北田幸二氏、製剤研究第二部次長 岡本康伸氏、ならびに製剤技術本部員各位に感謝致します。

さらに本研究の遂行にあたり協働していただきました静岡県立大学薬学部 曾根早織氏、勝又渉氏、椎葉祐貴氏、ならびに実践薬学分野の学生諸氏に感謝の意を表します。

最後に研究遂行中および論文執筆中にわたり、最も近くで常に深い理解と心身の支えとなってくれた妻 有紀、長男 結翔、長女 実緒、ならびに両親に心より深く感謝致します。

参考文献

- 1) Brniak W, Jachowicz R, Pelka P. The practical approach to the evaluation of methods used to determine the disintegration time of orally disintegrating tablets (ODTs). *Saudi. Pharm. J.*, 23, 437-443 (2015).
- 2) 増田義典. クスリが変わる 口腔内崩壊錠の大潮流・展望. *PHARM TECH JAPAN*, 26, 39-45 (2010).
- 3) The Food and Drug Administration. Orally disintegrating tablets. Guidance for industry. <https://www.fda.gov/downloads/Drugs/.../Guidances/ucm070578.pdf#search=%27Orally+disintegrating+tablets.+Guidance+for+industry%27> (2018年8月20日参照)
- 4) 萩原俊男, 高血圧治療中の患者および医師における服薬アドヒアランスに関する調査. *医学と薬学*, 69, 75-83 (2013).
- 5) 中村祐, 降矢芳子, 芳野浩樹, 谷奥正俊, 上野聡, 岸本年史. アルツハイマー型認知症患者における口腔内崩壊錠の意義--OD錠アンケートの結果より. *老年精神医学雑誌*, 17, 332-336 (2006).
- 6) Liu F, Ranmal S, Batchelor HK, Orlu-Gul M, Ernest TB, Thomas IW, Flanagan T, Tuleu C. Patient-centred pharmaceutical design to improve acceptability of medicines: Similarities and differences in paediatric and geriatric populations. *Drugs*, 74, 1871-1889 (2014).
- 7) 内田信也. 製剤と服薬アドヒアランス - 口腔内崩壊錠 (OD錠) -. *プラクティス*, 34, 170-172 (2017).
- 8) 並木徳之. 次世代型口腔内崩壊錠に求められる臨床的機能性とは? *薬学雑誌*, 135, 237-243 (2015).
- 9) 崎山美知代. PMDA 内小児医薬品ワーキンググループについて—PMDA の取り組み—. *日本小児臨床薬理学会雑誌*, 26, 20-23 (2013).
- 10) 石川洋一, 寺門浩之, 赤羽三貴, 小村誠, 齊藤順平. 小児用製剤の早期実用化に向けての課題とその打開策「小児医薬品の早期実用化に資するレギュラトリーサイエンス研究班」報告. *薬剤学*, 76, 324-339 (2016).
- 11) 高江誓詞, 保地毅彦, 近藤啓, 迫和博. 小児製剤に対する製薬企業の取り組み. *薬剤学*, 75, 32-37 (2015).
- 12) 寺下敬次郎, 小嶋純. 小児用を指向した「マイクロ OD錠」の設計. *PHARM. TECH. JAPAN*, 30, 33-40 (2014).
- 13) 落合康. ユニバーサルデザイン OD錠の開発-新規口腔内崩壊錠技術: SUITAB-NEX®-. *薬剤学*, 71, 17-20 (2011).
- 14) Ranmal SR, Cram A, Tuleu C. Age-appropriate and acceptable paediatric dosage forms : Insights into end-user perceptions, preferences and practices from the Children's Acceptability of Oral Formulations (CALF) Study. *Int. J. Pharm.*, 514, 296-307 (2016).
- 15) Bhowmik D, Chiranjib B, Krishnakanth P, Chandira RM. Fast dissolving tablet: An overview. *J. Chem. Pharm. Res.*, 1, 163-177 (2009).

- 16) Okuda Y, Irisawa Y, Okimoto K, Osawa T, Yamashita S. A new formulation for orally disintegrating tablets using a suspension spray-coating method. *Int. J. Pharm.*, 382, 80-87 (2009).
- 17) Okuda Y, Irisawa Y, Okimoto K, Osawa T, Yamashita S. Further improvement of orally disintegrating tablets using micronized ethylcellulose. *Int. J. Pharm.*, 423, 351-359 (2012).
- 18) Yamasaki K, Nagata M, Sato R, Setoguchi N, Akimoto N, Furuya Y, Sekiya H, Kawano Y, Sasaki H, Hidaka M, Okumura M, Arimori K. Evaluation of oral disintegration time of rapidly disintegrating tablets(RDTs) by *In Vivo* and *In Vitro* disintegration testing. *Jpn. J. Pharm. Health Care Sci.*, 32, 1124-1132 (2006).
- 19) Yoshita T, Uchida S, Namiki N. Clinical disintegration time of orally disintegrating tablets clinically available in Japan in healthy volunteers. *Biol. Pharm. Bull.*, 36, 1488-1493 (2013).
- 20) Elkhodairy KA, Hassan MA, Afifi SA. Formulation and optimization of orodispersible tablets of flutamide. *Saudi. Pharm. J.*, 22, 53-61 (2014).
- 21) Hooper P, Lasher J, Alexander KS, Baki G. A new modified wetting test and an alternative disintegration test for orally disintegrating tablets. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 120, 391-396 (2016).
- 22) Szakonyi G, Zelkó R. Prediction of oral disintegration time of fast disintegrating tablets using texture analyzer and computational optimization. *Int. J. Pharm.*, 448, 346-353 (2013).
- 23) Watanabe Y, Koizumi K, Zama Y, Kiriyama M, Matsumoto Y, Matsumoto M. New compressed tablet rapidly disintegrating in saliva in the mouth using crystalline cellulose and a disintegrant. *Biol. Pharm. Bull.*, 18, 1308-1310 (1995).
- 24) Narazaki R, Harada T, Takami N, Kato Y, Ohwaki T. A new method for disintegration studies of rapid disintegrating tablet. *Chem. Pharm. Bull.*, 52, 704-707 (2004).
- 25) Kakutani R, Muro H, Makino T. Development of a new disintegration method for orally disintegrating tablets. *Chem. Pharm. Bull.*, 58, 885-890 (2010).
- 26) Rachid O, Rawas-Qalaji M, Simons FE, Simons KJ. Rapidly-disintegrating sublingual tablets of epinephrine: Role of non-medicinal ingredients in formulation development. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 82, 598-604 (2012).
- 27) Kondo K, Niwa T, Ozeki Y, Ando M, Danjo K. Preparation and evaluation of orally rapidly disintegrating tablets containing taste-masked particles using one-step dry-coated tablets technology. *Chem. Pharm. Bull.*, 59, 1214-1220 (2011).
- 28) Nishiyama T, Ogata T, Ozeki T. Preparation of bitter taste-masking granules of lafutidine for orally disintegrating tablets using water-insoluble/soluble polymer combinations. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, 32, 38-42 (2016).
- 29) Shiino K, Iwao Y, Miyagishima A, Itai S. Optimization of a novel wax matrix system using aminoalkyl methacrylate copolymer E and ethylcellulose to suppress the bitter taste of acetaminophen. *Int. J. Pharm.*, 395, 71-77 (2010).
- 30) Cantor SL, Khan MA, Gupta A. Development and optimization of taste-masked orally disintegrating tablets (ODTs) of clindamycin hydrochloride. *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, 41, 1156-1164, (2015).

- 31) Lenik J, Wesoly M, Ciosek P, Wróblewski W. Evaluation of taste masking effect of diclofenac using sweeteners and cyclodextrin by a potentiometric electronic tongue. *J. Electroanal. Chem.*, 780, 153-159 (2016).
- 32) Nakano Y, Maeda A, Uchida S, Namiki N. Preparation and evaluation of unpleasant taste-masked pioglitazone orally disintegrating tablets. *Int. J. Pharm.*, 446, 160-165 (2013).
- 33) Walsh J, Cram A, Woertz K, Breitreutz J, Winzenburg G, Turner R, Teleu C. Playing hide and seek with poorly tasting paediatric medicines, Do not forget excipients. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 73, 14-33 (2014).
- 34) Shah PP, Mashru RC. Formulation and evaluation of taste masked oral reconstitutable suspension of primaquine phosphate. *AAPS PharmSciTech*, 9, 1025-1030 (2008).
- 35) Guo Z, Wu F, Singh V, Guo T, Ren X, Yin X, Shao Q, York P, Patterson LH, Zhang J. Host-guest kinetic interactions between HP- β -cyclodextrin and drugs for prediction of bitter taste masking. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 140, 232-238 (2017).
- 36) Shirai, Y, Sogo K, Yamamoto K, Kojima K, Fujioka H, Makita H, Nakamura Y. A novel fine granule system for masking bitter taste. *Biol. Pharm. Bull.*, 16, 172-177 (1993).
- 37) Hamashita T, Matsuzaki M, Ono T, Ono M, Tsunenari Y, Aketo T, Watano S. Granulation of core particles suitable for film coating by agitation fluidized bed II. A proposal of a rapid dissolution test for evaluation of bitter taste of ibuprofen. *Chem. Pharm. Bull.*, 56, 883-887 (2008).
- 38) Shirai Y, Sogo K, Fujioka H, Nakamura Y. Influence of heat treatment on dissolution and masking degree of bitter taste for a novel fine granule system. *Chem. Pharm. Bull.*, 44, 399-402 (1996).
- 39) Yajima T, Fukushima Y, Itai S, Kawashima Y. Method of evaluation of the bitterness of clarithromycin dry syrup. *Chem. Pharm. Bull.*, 50, 147-152 (2002).
- 40) Patra S, Samantaray R, Pattnaik S, Barik BB. Taste masking of etoricoxib by using ion-exchange resin. *Pharm. Dev. Technol.*, 15, 511-517 (2010).
- 41) Lee JH, Choi G, Oh YJ, Park JW, Choy YB, Park MC, Yoon YJ, Lee HJ, Chang HC, Choy JH. A nanohybrid system for taste masking of sildenafil. *Int. J. Nanomedicine*, 7, 1635-1649 (2012).
- 42) Sheshala R, Khan N, Darwis Y. Formulation and optimization of orally disintegrating tablets of sumatriptan succinate. *Chem. Pharm. Bull.*, 59, 920-928 (2011).
- 43) Guhmann M, Preis M, Gerber F, Pöllinger N, Breitreutz J, Weitschies W. Development of oral taste masked diclofenac formulations using a taste sensing system. *Int. J. Pharm.*, 438, 81-90 (2012).
- 44) Shukla D, Chakraborty S, Singh S, Mishra, B. Fabrication and evaluation of taste masked resinate of risperidone and its orally disintegrating tablets. *Chem. Pharm. Bull.*, 57, 337-345 (2009).
- 45) 開発薬剤の苦みを評価 - ラット味覚モデル試験を展開, *薬事日報*, 14 面, 2016 年 8 月 29 日
- 46) Harada T, Uchida T, Yoshida M, Kobayashi Y, Narazaki R, Ohwaki T. A new method for evaluating the bitterness of medicines in development using a taste sensor and a disintegration testing apparatus. *Chem. Pharm. Bull.*, 58, 1009-1014 (2010).
- 47) Takeuchi Y, Usui R, Ikezaki H, Tahara K, Takeuchi H. An advanced technique using an electronic

- taste-sensing system to evaluate the bitterness of orally disintegrating films and the evaluation of model films. *Int. J. Pharm.*, 539, 179-190 (2017).
- 48) Wu X, Onitake H, Haraguchi T, Tahara Y, Yatabe R, Yoshida M, Uchida T, Ikezaki H, Toko K. Quantitative prediction of bitterness masking effect of high-potency sweeteners using taste sensor. *Sens. Actuators B Chem.*, 235, 11-17 (2016).
 - 49) Tokuyama E, Matsunaga C, Yoshida K, Misfud J, Irie T, Yoshida M, Uchida T. Famotidine orally disintegrating tablets: Bitterness comparison of original and generic products. *Chem. Pharm. Bull.*, 57, 382-387 (2009).
 - 50) Ito M, Ikehama K, Yoshida K, Haraguchi T, Yoshida M, Wada K, Uchida T. Bitterness prediction of H1-antihistamines and prediction of masking effects of artificial sweeteners using an electronic tongue. *Int. J. Pharm.*, 441, 121-127 (2013).
 - 51) Wang Y, Feng Y, Wu Y, Liang S, Xu D. Sensory evaluation of the taste of berberine hydrochloride using an electronic tongue. *Fitoterapia*, 86, 137-143 (2013).
 - 52) Haraguchi T, Yoshida M, Uchida T. Evaluation of ebastine-loaded orally disintegrating tablets using new apparatus of detecting disintegration time and e-tongue system. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.*, 24, 684-688 (2014).
 - 53) Rachid O, Simons FER, Rawas QM., Simons KJ. An electronic tongue: Evaluation of the masking efficacy of sweetening and/or flavoring agents on the bitter taste of epinephrine. *AAPS PharmSciTech*, 11, 550-557 (2010).
 - 54) Khaydukova M, Kirsanov D, Pein HM, Immohr LI, Gilemkhanova V, Legin A. Critical view on drug dissolution in artificial saliva: A possible use of in-line e-tongue measurements. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 99, 266-271 (2017).
 - 55) Ciosek P, Wesoly M, Zabada M, Lisiecka J, Sołohub K, Cal K, Wróblewski W. Towards flow-through/flow injection electronic tongue for the analysis of pharmaceuticals. *Sens. Actuators B Chem.*, 207, 1087-1094 (2015).
 - 56) Wesoly M, Zabada M, Amelian A, Winnicka K, Wróblewski W, Ciosek P. Tasting cetirizine-based microspheres with an electronic tongue. *Sens. Actuators B Chem.*, 238, 1190-1198 (2017).
 - 57) Alpha M.O.S., Astree electrochemical sensor technology. Technical note, T-SA, S-S04 (2004)
 - 58) Nakamura H, Uchida S, Sugiura T, Namiki N. The prediction of the palatability of orally disintegrating tablets by an electronic gustatory system. *Int. J. Pharm.*, 493, 305-312 (2015).
 - 59) 倉田なおみ, 榎本愛, 加藤肇, 片岡聡. 高齢者が服用しやすい医薬品の研究-服用可能な口腔内崩壊錠の大きさに関する評価-. *J. Pharm. Health Care Sci.*, 36, 397-405 (2010).
 - 60) 湯川十三, 姉帯勝, 竹内洋文, 帆足洋平. 口腔内速崩壊錠用崩壊試験機 – トリコープテストター. *すべてがわかる口腔内崩壊錠ハンドブック*, 277 – 279 (2012)
 - 61) European agency for the evaluation of medicinal products, Formulations of choice for the paediatric population, (2006).
 - 62) Woertz K, Tissen C, Kleinebudde P, Breitzkreutz J. Performance qualification of an electronic tongue based on ICH guideline Q2. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 51, 497-506 (2010).

- 63) Pein M, Eckert C, Preis M, Breitzkreutz J. New protocol for α Astree electronic tongue enabling full performance qualification according to ICH Q2. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 83, 157-163 (2013).
- 64) 鹿庭なほ子, 尾島善一. 医薬品の分析法の真度および精度を評価するための実験計画①, *PHARM TECH JAPAN*, 16, 7-15 (2000).
- 65) 鹿庭なほ子, 尾島善一. 医薬品の分析法の真度および精度を評価するための実験計画②, *PHARM TECH JAPAN*, 16, 33-57 (2000).
- 66) 日本規格協会. 測定方法及び測定結果の精確さ (真度及び精度) , JIS Z 8402-1999 (1999).
- 67) Kobayashi Y, Habara M, Ikezaki H, Chen R, Naito Y, Toko K. Advanced taste sensors based on artificial lipids with global selectivity to basic taste qualities and high correlation to sensory scores. *Sensors*, 10, 3411 – 3443 (2010)
- 68) Pfaffmann, C. The sense of taste. *Handbook of Physiology, Neurophysiology*; 507 – 533 (1959)
- 69) Beider, L.M. Taste. *Handbook of Sensory Physiology IV: Chemical Senses*, 200 – 220 (1971)