

製剤機械技術研究会誌
J. Jpn. Soc. Pharm. Mach. & Eng.
11 (4) 5-11 (2002)

二層凍結乾燥製剤の開発

池田 勝^{a)}、山本 真一^{b)}
三共(株) 製薬戦略部^{a)}、製品開発研究所^{b)}

Development and Application of Bilayer Freeze-Drying Technology

Masaru IKEDA^{a)}, Shinichi YAMAMOTO^{b)}

Manufacturing Strategy Department^{a)}, Product Development Laboratories^{b)} SANKYO CO., LTD.
3-5-1, Nihonbashi Honcho, Chuo-ku, Tokyo 103-8426, Japan

The Bilayer Freeze Drying Technique was industrially applied in the formulation process of the drip infusion product of panipenem (PAPM), a carbapenem antibiotic drug. The purpose was to prevent the chemical interaction between PAPM and betamipron (BP), an organic anion transport antagonist, which was combined to reduce the renal side effect due to PAPM.

The technique has not been tried in the manufacturing scale facility since the concept of the technique was reported in 1977¹⁾. The authors succeeded to apply the concept in the PAPM product.

This article describes the issues encountered in the development of the product and the results obtained in the studies for establishing the production line.

1. はじめに

凍結乾燥法が医薬品製造において利用されるのは、主として不安定薬物を含む注射製剤に適用される場合がほとんどである。その長所は緩やかな乾燥条件により不安定薬物の工程安定性を確保できることに加え、溶解液添加時における迅速な再溶解が期待できることである。一方、短所としては、大掛かりな装置に多大な設備費用がかかること、および数十時間に及ぶ長時間工程が一般的なことである。

筆者らはカルバペネム系抗生物質パニペネム (Panipem, PAPM) の点滴注射製剤化に凍結乾燥法を適用したが、二層凍結乾燥とよばれる新しい凍結乾燥の手法によるものであった。(Fig. 1)

本製剤は二層に分離した凍結乾燥品という独特



Fig. 1 Photograph of Bilayer Freeze-Dried Injection Product

な製剤形態となったが、その目的はPAPMの安定性を確保するとともに、同時配合薬物ベタミプロン (Betamipron, BP) とPAPMとの間に認められた化学的相互反応を避けることであった。

二層凍結乾燥のコンセプトは既に1977年報告¹⁾されているが、それは実験室規模での内容であり、本格的な工業的製造に適用され実用化された例は、今回が初めてであった。

二層凍結乾燥法の概略については、既に共著者の一人により本誌に紹介されている²⁾ので参照いただくこととし、今回は同手法が新製品開発において果たした役割および工業化検討において見出された興味ある知見を中心に述べてみたい。

2. パニペネムとベタミプロンの配合安定性

製剤化研究においてPAPMの安定性確保には食塩の配合が有効・必須であることが見出され、Table I に示される製剤組成が得られた。さらに第二の問題点としてPAPMとBPはFig. 2に示されるような反応により縮合体R976-1を生成すること、この反応は水溶液中だけでなく固体状態でも進行することが明らかとなった。すなわち、縮合

体R976-1は水溶液状態で取扱われる製剤工程中のみならず、凍結乾燥後の製剤においても経時的に増加することが示唆された。縮合体自身は安全性に問題の無いことが確認されたが、この反応によって本来不安定な薬物であるPAPMが若干ではあるがより力価低下を促進され、本来は安定なBPも縮合体の生成分だけ含量低下を起こすことが判明した。

この時点において、縮合体の生成を抑制しかつ両薬物を安定化する方法として、PAPMとBPを別々の層に分けて凍結乾燥する二層凍結乾燥法の適用が考慮された。そしてTable II に示すように、二層凍結乾燥製剤とする事により安定性は確保され、縮合体R976-1の生成はPAPMとBPの混合水溶液をそのまま凍結乾燥した一層凍結乾燥品に比較して顕著に抑制される結果が得られ、これらの

Table I Composition of Panipenem Injections

Strength	250	500
Panipenem	250mg/v	500mg/v
Betamipron	250mg/v	500mg/v
NaCl	50mg/v	100mg/v

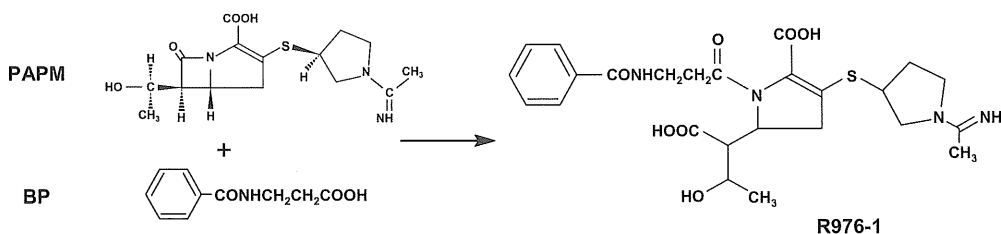


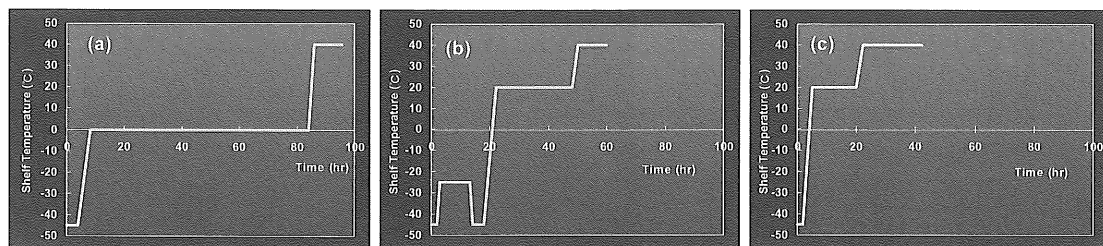
Fig. 2 Reaction between PAPM and BP

Table II R976-1 Amount Produced in Conventional and Bilayered Lyophilization Product

		Conventional	Double-layered
		R976-1* (%)	R976-1* (%)
50°C	Initial	0.6	0.1
	2M	1.4	0.4
	3M	2.4	0.6
40°C	4M	1.1	0.2
	6M	1.2	0.2

*R976-1: PAPM-BP condensation product

Total Lyophilization Time of conventional and bilayered Freeze-drying system applying PAPM/BP



	Conventional FD		Bilayered FD
Thermal Treatment Process	(a) no	(b) yes	(c) no
Drying Temperature	low	high	high
Total FD Time	96hr~	60hr~	~42hr

Fig. 3 Improvements of Freeze-drying Cycles : (a) conventional FD at low temperature drying, (b) conventional FD with thermal treatment at high temperature drying, and (c) bilayered FD without thermal treatment at high temperature drying.

結果に基づいて本法の適用が決定された。

3. 凍結乾燥パラメーター

凍結乾燥工程における条件を決めるパラメーターの選定は、工程所要時間、製品仕上がり状態に大きく影響することが知られている。特に共晶点温度、崩壊温度などは操作パラメーターを決定する上で重要な意味を持っている。

本製剤の工程所要時間は、二層法を用いた場合には通常（一層）の凍結乾燥にて製した場合に比べて、大幅に短縮されることが現象として認められた。その主たる理由は一次乾燥工程棚温度を二層法の場合は相対的に高温に設定が可能であったことである。(Fig. 3)

通常法である一層凍結乾燥法 (a) では、0℃が上限であることにに対して二層法 (c) では+20℃が設定できた。そこで二層法で高温の温度設定が可能になった原因、理由に関し検討を進めることとした。

(1) 両成分の凍結乾燥特性

各成分の個別水溶液についての凍結乾燥実験に

おいて、PAPM+NaCl層は、単純に冷却凍結させた後の乾燥工程における温度設定 +20℃が適用可能で、比較的短時間で容易に満足すべき外観を呈する乾燥ケーキが得られた。

一方、Fig. 4にて示されるように、BP溶液の凍結乾燥は単純な凍結乾燥では良好な乾燥品（ケーキ）が得られなかった (a)。一次乾燥棚温度として0℃以下の低温設定により長時間の乾燥を行うか、または一旦凍結させた層を部分的に融解させる、いわゆる熱処理工程を経て初めて、+20℃などの高温乾燥が可能となった (b)。

すなわちBP水溶液の凍結乾燥は難しく、低温下長時間を要することが判明し、本製剤凍結乾燥における律速は、BPの特性によることが明らかとなった。

(2) 熱処理によるベタミプロロン溶液凍結層の変化

熱処理の実施により、BP溶液凍結層に生じる現象について凍結層電気抵抗値を測定した。Fig. 5右上のチャートに示したパターンで温度変化させた時のBP溶液凍結層の電気抵抗値変化をプロットして、Fig. 5のヒステリシス曲線が得られた。すな

Appearance of Freeze-Dried BP with and without Thermal Treatment

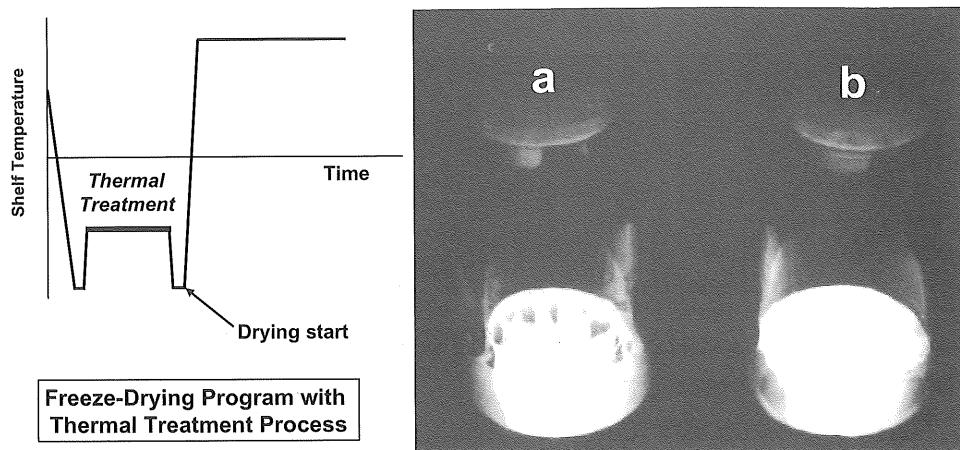


Fig. 4 Freeze-drying Program with thermal treatment process and appearance of freeze-dried BP (a) without and (b) with thermal treatment.

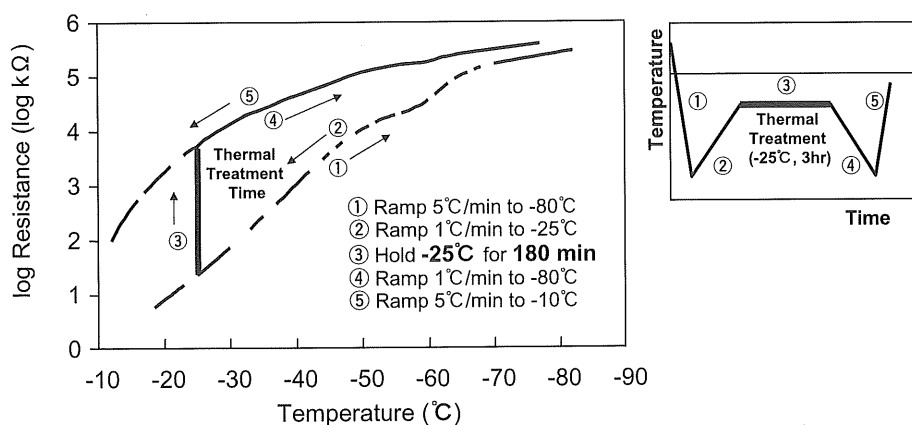


Fig. 5 Change in electric resistance during cooling, rewarming, and "thermal treatment".

わちBP凍結層では、一旦 -80°C 以下に深く凍結させた後 -25°C まで昇温させ、この温度保持によって、電気抵抗の上昇が認められた。

凍結層の電気伝導は液体として存在する水（不凍水）によると考えられるので、この -25°C 付近での伝導度低下（抵抗値上昇）は不凍水の結晶化によると推察される。

不凍水の存在様式には種々の様式が想定されているが、共存する物質との相互作用により共晶化もせず、また個別に結晶化することもなく、低温下で不安定な状態で存在することには異論がない。

熱処理とは、凍結層を昇温することによりこの不安定状態から安定状態（結晶化）への移行を促進させることであると考えられる。

(3) 結晶化現象

上記熱処理工程において、水とBPの結晶化が促進されることが推察されたが、そのことをより明確にするために低温下（ -25°C ）X線粉末解析を行った。

Fig. 6に示されるように、一旦 -40°C に冷却した凍結層を -25°C まで上昇させ、ここで保持しつ

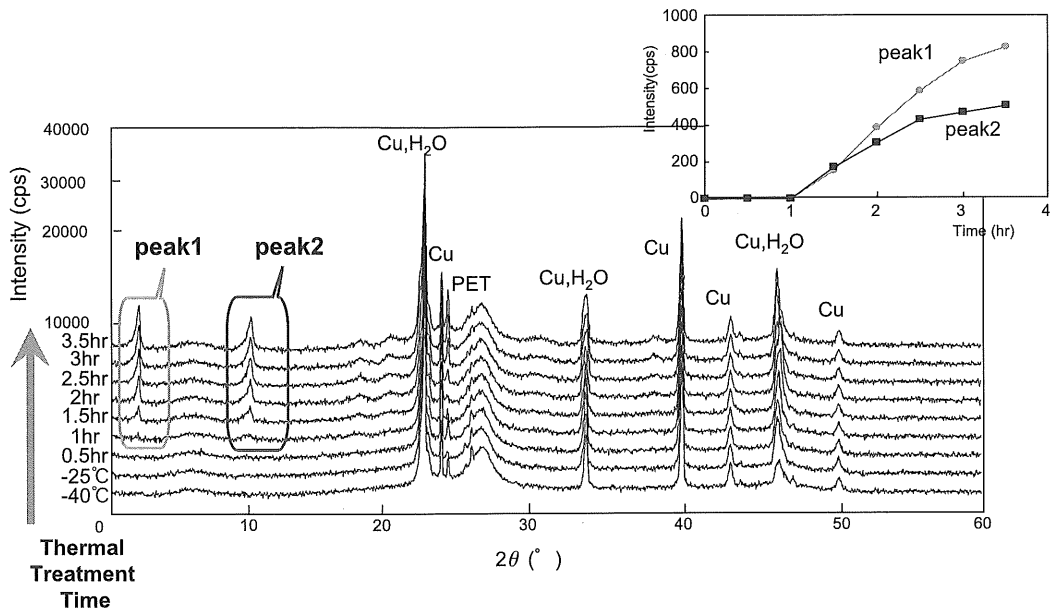


Fig. 6 X-ray powder diffraction patterns obtained during the thermal treatment of BP solution at -25°C .

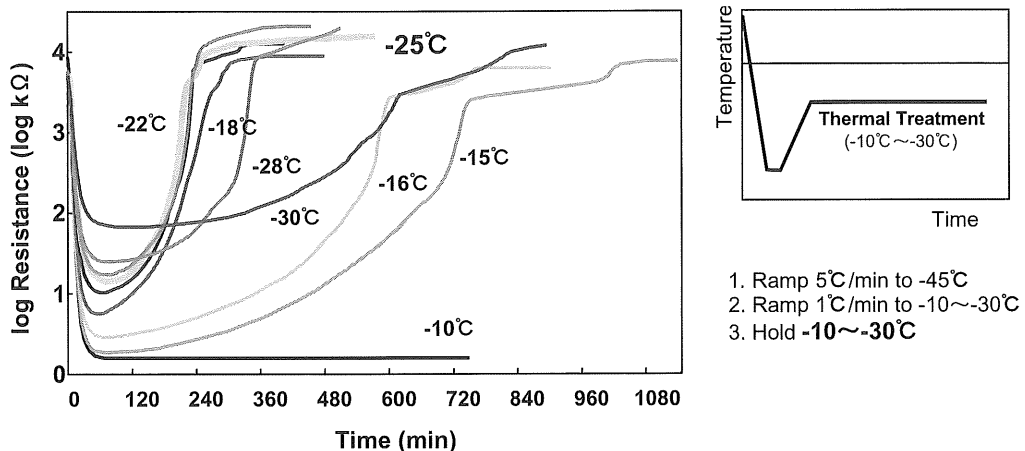


Fig. 7 Change in resistance of frozen BP during thermal treatment. BP concentration, 100 mg/g ; freezing temperature, -45°C ; thermal treatment temperature, $-10^{\circ}\text{C} \sim -30^{\circ}\text{C}$.

つX線回析パターンの変化を追ったものである。単純な -40°C 凍結では H_2O （氷）による回析ピークのみが観察され、 -25°C に上げて保持することにより時間の経過とともに、二種類の新たなピーク（Peak1、Peak2）が出現し、徐々に成長していく現象が確認された。これは、BP結晶に由来するピークと推定される。

すなわち、水（不凍水）とともに非晶状態に存在したBPが、氷結晶とBP結晶に分離生成したも

のと考えられる。

（4）結晶化速度

さて、熱処理によりBPが結晶化することは明らかとなったが、最も効率よく（最短時間にて）結晶化させる温度を求めるため、Fig. 7に示す実験を行った。一旦 -45°C に凍結させたBP溶液層を $-30^{\circ}\text{C} \sim -15^{\circ}\text{C}$ の範囲で異なった温度に保持しつつ電気抵抗の時間変化を測定した。 -45°C 冷却

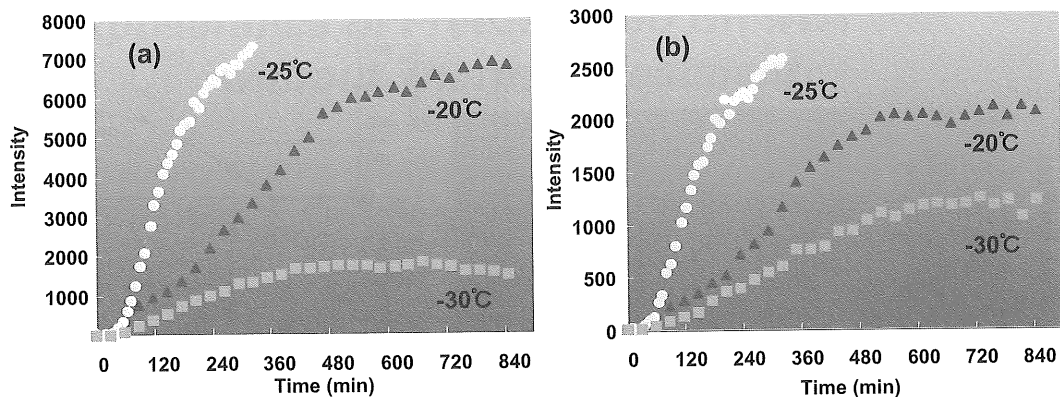


Fig. 8 XRD peak intensity against time obtained during the thermal treatment of BP solution at -20, -25, -30°C. (a) peak 1, (b) peak 2

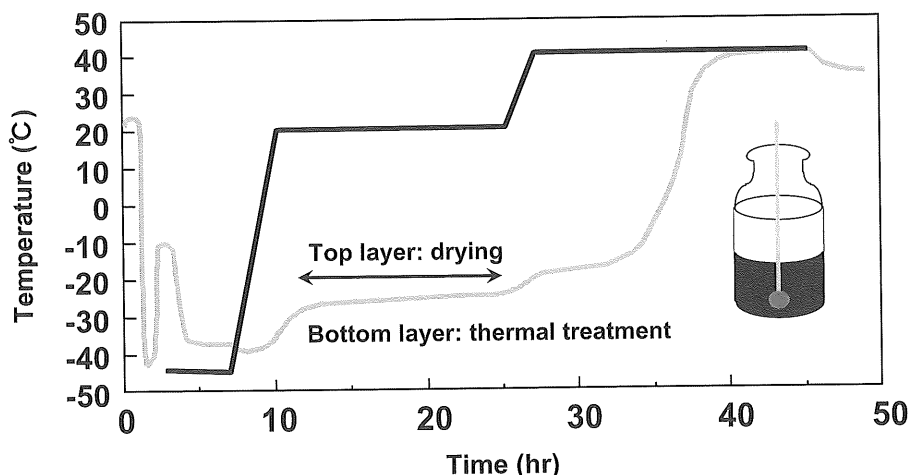


Fig. 9 All freeze-drying time was shortened largely by without the heat-treatment.
— : shelf temperature, — : product temperature.

によって上昇した抵抗値は、保持温度まで上昇させることにより低下するが、不凍水の結晶化により再び上昇する。図に示される結果より、最適な熱処理温度は-20°C～-25°Cと考えられ、所要時間は約4時間と推定された。

また、Fig. 8に示される3水準の熱処理温度下でのX線回析ピークの成長速度からも、同様な結論が導かれた。

(5) 二層凍結乾燥工程におけるBP層の温度変化

さて、二層凍結乾燥におけるBP層（下層）の温度変化を追跡したのがFig. 9である。一次乾燥における棚温度20°Cにて上層（PAPM層）乾燥中に、

下層（BP層）品温は-25°C付近にあり長時間に亘って熱処理を受けたと同じ状況が生じている。すなわち、上層では乾燥工程進行中に下層では熱処理工程が同時に進行し、乾燥工程が下層に移る時には既に熱処理が完了していることを意味する。以上の上下両層で並行して進行するプロセスが、工程全体の時間短縮を達成させたものと結論される。

4. 二層凍結乾燥プロセスの工業化

上記に述べてきたPAPM/BP製剤工程には二層凍結乾燥法が初めて工業的に適用されたが、その工程を実験室レベルを経て製造ラインとして組み立てるに際して、種々の配慮や工夫が必要とされ

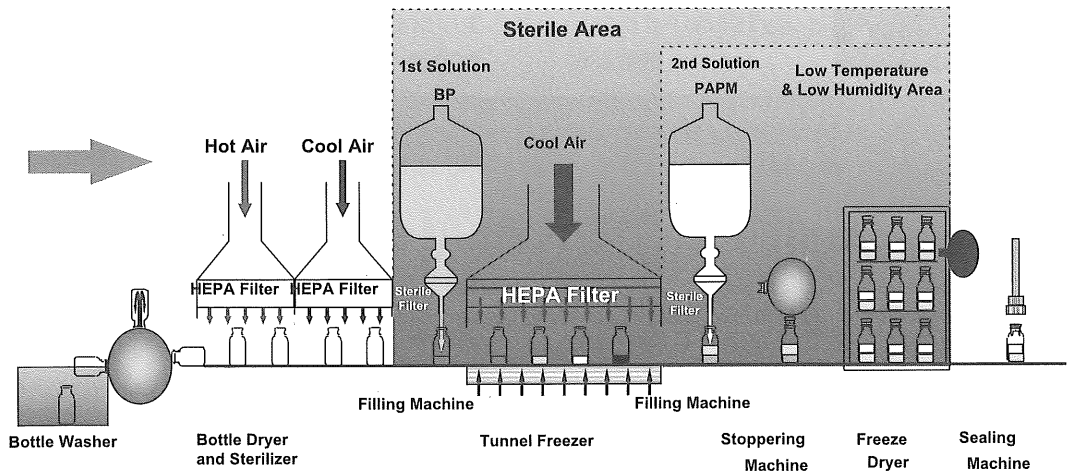


Fig. 10 The Schematic Diagram of the Industrial Double Layer Freeze Drying Process for CARBENIN® Intravenous Drip Infusion 0.5g, 0.25g.

た。それらの中で特に重要点は下記の3点であったが、すべて凍結させた下層の上に次の液を充填し速やかに凍結させることに関係している。(Fig. 10)

(1) 第一液（下層）凍結工程の連続化

この工程がバッチ方式であった場合は、次の第二液充填から凍結乾燥庫への搬入までの所要時間にバッチ内バイアル間（先頭と後尾）に広い時間差を想定せざるを得ず、バイアル内温度の上昇による両液層の融解混合を起こす危険がある。従ってこの工程は、筆者らが選定したトンネル凍結装置のような連続操作が必要がある。

(2) 第二液（上層）充填工程時間の短縮化

上記（1）と関連して、第二液充填／ゴム栓装着（半打栓）／凍結乾燥庫搬入の一連工程は可及的迅速に実施されることが必要である。このため充填される第二液は予め冷却しておくこと、充填から搬入までの操作環境の低温化などを実施した。また、些細な原因によるラインの一時停止多発は致命的であり、このため各機器の性能信頼性は最も重要な課題であった。

(3) 凍結乾燥庫への搬入方式

第二液（上層）充填後は速やかな凍結が必要であるため、予め棚温度を凍結条件まで冷却した凍

結乾燥庫への搬入は、バッチ方式ではあっても、短いサイクルで逐次搬入できる方法を採用した。

5. おわりに

以上、二層凍結乾燥法について、工業的生産へ初めの適用例として、パニペネム製剤開発の事例を紹介した。二層を始めとする、いわゆる多層凍結乾燥法のコンセプトは、製品中薬物の安定化や、凍結乾燥所要時間の短縮など利点も多く、応用性に富む手法であるといえる。しかし、一方では工業的生産を行うには多額の設備投資と工程の安定的操作法の確立等の課題があり、今後の新製品への適用については、事前に十分な検討が必要であらう。

参考文献

- 1) B. Couriel ; Advance in Lyophilization Technology, *Bull. of Parenteral Drug Ass.*, 31, 227 (1977).
- 2) 山本 真一：多層凍結乾燥注射剤の開発、製剤機械技術研究会誌、7 (3)、132 (1998)。
- 3) 山本 真一、塩荊 隆、池田 勝；化学療法の領域、10、2147 (1994)。
- 4) 上田 省吾、塩荊 隆、池田 勝；日本特許広報、特公平7-116022。
- 5) 山本 真一、塩荊 隆、池田 勝；薬剤学、56 (3)、57 (1996)。