懸濁点眼剤の物理的な安定性に及ぼす保管期間の影響

中田雄一郎,^{*,a} 山口瑞季,^b 出口粧央里,^b 稲葉一訓,^b 長井紀章^b

Effect of Shelf Life on the Physical Stability of Suspended Ophthalmic Solutions

Yuichiro Nakada,^{*,a} Mizuki Yamaguchi,^b Saori Deguchi,^b Kazunori Inaba,^b and Noriaki Nagai^b^aFaculty of Pharmacy, Osaka-Ohtani University; 3-11-1 Nishikiorikita, Tondabayashi, Osaka 584-8540, Japan; and ^bFaculty of Pharmacy, Kindai University; 3-4-1 Kowakae, Higashi-Osaka, Osaka 577-8502, Japan.

(Received January 10, 2021; Accepted March 6, 2021)

Quality changes associated with physical changes in suspended eye drops are difficult to predict. In this study, we attempted to evaluate the aggregation and redispersability in commercially available suspended eye drops (fluorometholone ophthalmic solutions). The 0.1% fluorometholone ophthalmic solutions (the original product and 4 generic products) were gently mixed by hand after short-term (4 months) or long-term (40 months) storage, and the drug concentration in the first drop and physical stability (redispersability and particle size) were measured. All eye drops produced a cloudy precipitate on the bottom surface of the container, and the amount of precipitate decreased with mixing time. The drug concentration per drop in the original product was approximately 70% of the labeled value after mixing 10 times, and the drug particle size was approximately 4 μm . After mixing the generic products stored short-term 10 times, the concentration ranged from less than 50% to almost 100%. In addition, some generic products after long-term storage had a reduced redispersion ability and labeled concentration. These results suggested that at least 10 mixing were required before the using of fluorometholone original product. In addition, some generic products may not provide sufficient drug exposure even when mixed in the same manner as the original products.

Key words—suspended ophthalmic solution; redispersability; storage period; generic product; drug concentration; particle size

緒 言

医薬品にとって品質は有効性、安全性と同様に重要である。これら医薬品の品質に及ぼす影響には化学的な影響、物理的な影響に加え、微生物によって変質する生物学的な影響が挙げられる。一般に、製剤の化学的変化は、加速試験や苛酷試験で推定可能であり、生物学的要因はカビや微生物の有無を確認することで評価可能である。一方、薬物粒子の凝集や再分散性といった物理的変化は、化学的変化や生物学的要因による変化と異なり予測することが難しいのが現状である。

眼科領域において、物理的評価の検証が品質に大きく影響するとされる製剤として懸濁製剤中の薬物粒子の分散安定性がある。点眼剤に供される薬物の中には水に対する溶解度が低い薬物も多く、水性懸

濁点眼剤や眼軟膏剤が剤形として選択されている。この水性懸濁点眼剤は難溶性薬剤の微細結晶や微粉末を水性媒体に懸濁させた水性製剤であり、眼軟膏に比べて点眼手法が容易であり、点眼時の不快感も少ないという特徴を有している。しかし、水性懸濁点眼剤では懸濁された薬物が時間とともに沈降するため、薬物の沈降速度を遅くするとともに、薬物の沈降によって堆積層が形成された場合には、簡単な振とうや攪拌によって均一な懸濁液に戻る特性（再分散性/再懸濁性）が求められている。さらに懸濁製剤は、保存中に分散粒子が成長し粒子径が変化すると生物効果に影響すること¹⁾や容器への凝集塊の固着が知られており、これらは点眼液1滴中の薬物濃度を変化させ、有効性に直接影響することが容易に類推できる。

懸濁点眼剤には多くの種類が用いられているが、なかでもフルオロメトロン点眼液0.1%（以下、FML0.1と略称）は強い局所消炎作用を持つが、眼圧上昇作用が他のステロイドに比べ弱く、眼科領域

^a大阪大谷大学薬学部, ^b近畿大学薬学部

*e-mail: nakadayu@osaka-ohtani.ac.jp

Table 1. Composition and Lot of FML 0.1 Used in This Study

Formulation		Lot (Expiration Date)	Additives
Original	4 M-storage	1FM6333 (Sep., 2022)	Sodium edetate hydrate, Sodium chloride, Benzalkonium chloride, Sodium dihydrogen phosphate hydrate, Polysorbate 80, Methylcellulose, Sodium hydrogen phosphate hydrate
	40 M-storage	1FM6072 (Jul., 2019)	
Generic A	4 M-storage	P468 (Jul., 2022)	Methylcellulose, Benzalkonium chloride, Sodium hydrogen phosphate hydrate, Sodium chloride, Hydrochloric acid
	40 M-storage	K302 (Oct., 2019)	
Generic B	4 M-storage	G110 (Feb., 2022)	Sodium chloride, Benzalkonium chloride, Polysorbate 80, Sodium edetate hydrate, Sodium hydrogen phosphate hydrate, Sodium dihydrogen phosphate hydrate, Polyvinyl alcohol (partially saponified)
	40 M-storage	B850 (Oct., 2019)	
Generic C	4 M-storage	L19902 (Feb., 2022)	Polysorbate 80, Benzalkonium chloride, Anhydrous sodium nonhydrogen phosphate, Anhydrous sodium dihydrogen phosphate, Tonicity agent
	40 M-storage	L16909 (Sep., 2019)	
Generic D	4 M-storage	9535 (Nov., 2022)	Potassium dihydrogen phosphate, Sodium hydrogen phosphate hydrate, Sodium chloride, Benzalkonium chloride, Methylcellulose
	40 M-storage	6377 (Sep., 2019)	

でよく使用される代表的な懸濁点眼剤である。また後発品が多く流通されているのも大きな特徴である。今回、これら FML0.1 を用いて、異なる期間保管した際の物理的な安定性(再分散性及び粒子径)を評価するとともに、混和後の初回 1 滴中のフルオロメトロン (FML) 濃度変化について検討した。

方 法

1. 試料 実験には臨床で用いられている先発品 1 種と後発品 4 種 (後発品 A-D) の計 5 種の FML0.1 を選択した。これら点眼液を、研究室の保管棚に未開封の状態で 4 ヶ月 (短期保管) 及び 40 ヶ月間 (長期保管) 正立静置保存し、その後の懸濁粒子の状態を評価した。なお長期保管品は物理化学的な変化を明確に観察するために使用期限を超えた 40 ヶ月保管品を使用した。この際、保管温度は実際の使用を想定し成り行き (室温) とした。Table 1 には今回実験に使用した 5 種の FML0.1 の Lot や処方内容を示す。試験は 2020 年 6-8 月に実施した。

2. 再分散性試験 再分散性の確認は試験者 (男性 61 歳, 女性 23 歳) の肘を机に固定し、人差し指と親指で点眼容器のキャップ上部と底面を挟むように軽く持ち、点眼容器をゆっくりと約 45-90° の角度で 2, 3, 5, 10 回手振りし (手振り混和)、容器固着と白濁性を目視観察することで実施した。目視観察は Fig. 1 に示すように、固化沈殿物の容器底面に対する面積割合を 0 から +5 の 6 段階で評

Fig. 1. Evaluation Score for Precipitation in the Bottle of FML0.1

There are precipitates in the area surrounded by the dotted line. (Color figure can be accessed in the online version.)

価した。具体的には「0」はほぼ固化沈殿物なし、「+1」は 1 割未満、「+2」は 1-2 割程度、「+3」は 3-4 割程度、「+4」は 5-7 割程度、「+5」は 8 割以上を目安とした。

3. 点眼液中薬物粒子の観察と粒度分布の測定 室温下で短期及び長期保管した点眼液に対し、2. で示した手振り混和を 2-10 回行い、点眼瓶から 1 滴滴下した液中の粒子状態を観察した。粒子状態は光学顕微鏡 BA210E (島津製作所, 京都) にて観察することで評価した。また、薬物粒度分布及び平均粒子径はレーザ回折式粒度分布測定装置 SALD-7100 (島津製作所, 京都) にて測定した。実験は 3 回以上繰り返し、再現性があることを確認した。

4. HPLC 法による FML の定量法 上記 3. で示した同様の方法にて、短期及び長期保管した点

Fig. 2. Image of FML0.1 Stored for 4 M and 40 M
(Color figure can be accessed in the online version.)

Table 2. Precipitation and Redispersability in the FML0.1 Stored for 4 M and 40 M

Formulation		Number (Count)			
		2	3	5	10
Original	4 M-storage	+ 0, + 0, + 1	+ 0, + 0, + 0	+ 0, + 0, + 0	+ 0, + 0, + 0
	40 M-storage	+ 0, + 4, + 1	+ 0, + 2, + 0	+ 0, + 0, + 0	+ 0, + 0, + 0
Generic A	4 M-storage	+ 0, + 0, + 0	+ 0, + 0, + 0	+ 0, + 0, + 0	+ 0, + 0, + 0
	40 M-storage	+ 4, + 4, + 5	+ 4, + 3, + 3	+ 1, + 0, + 2	+ 0, + 0, + 0
Generic B	4 M-storage	+ 4, + 4, + 4	+ 3, + 4, + 4	+ 1, + 3, + 3	+ 0, + 2, + 2
	40 M-storage	+ 4, + 4, + 4	+ 3, + 3, + 3	+ 1, + 2, + 2	+ 0, + 1, + 1
Generic C	4 M-storage	+ 0, + 0, + 0	+ 0, + 0, + 0	+ 0, + 0, + 0	+ 0, + 0, + 0
	40 M-storage	+ 0, + 0, + 0	+ 0, + 0, + 0	+ 0, + 0, + 0	+ 0, + 0, + 0
Generic D	4 M-storage	+ 0, + 2, + 2	+ 0, + 1, + 0	+ 0, + 0, + 0	+ 0, + 0, + 0
	40 M-storage	+ 2, + 4, + 3	+ 2, + 3, + 2	+ 1, + 0, + 0	+ 0, + 0, + 0

眼液から1滴の薬液を回収し、測定試料とした。これら試料中のFML含量及び濃度をHPLC法にて測定した。試料30 μ Lに、50 μ g/mL *p*-ヒドロキシ安息香酸 *n*-ブチル（内標準物質、メタノールにて溶解）80 μ Lを加え、この液をクロマトディスク4A（0.45 μ m, クラボウ）でろ過後HPLCに注入した。高速液体クロマトグラフ装置はLC-20AT（島津製作所）を使用した。カラムはTSKgel ODS-100V（5 μ m, 4.6 mm I.D. $\times$ 15 cm, TOSOH BIOSCIENCE）を用い、移動相（メタノール：水 = 7 : 3）で平衡化した。HPLCへの注入量は10 μ Lとし、測定温度はオープンカラムCTO-20A（島津製作所）にて35°Cを維持した。また、移動相の流速は0.8 mL/min, 254 nmの紫外外部吸収を測定し、測定時間は12.5分とした。

5. 解析 データは平均値 $\pm$ 標準誤差 (S.E.) として表した。有意差検定はJAM Ver.5.1（日本SAS協会）コンピュータプログラムを用いて行っ

た。各々の実験値の有意差比較にはStudentの *t*-testを用い、*p* 値が0.05未満を有意差ありとした。

結 果

1. 短期保管及び長期保管後のFML0.1中薬物状態とその再分散性の評価 Figure 2に各種FML0.1の短期保管品と長期保管品の点眼容器の底面部分画像を示す。また、Table 2にはこれらFig. 2で示した保管品を本研究法で用いた手振り混和法を用いた再分散性試験に適用した際の結果を示す。いずれの点眼薬においても、短期・長期保管後、容器の底に白濁沈殿物が生じ、手振り（混和）回数の増加に従い沈殿物量の減少が認められた。この際、短期保管品では後発品Bを除き、3回混和でほとんどの製品において固化沈殿物は認められなくなった。また、長期保管品においても混和回数に従い容器底面の固化沈殿物は減少し、後発品Bを除き、10回混和で固化沈殿物は認められなかった。この

Fig. 3. Effect of Mixing on the FML Concentration in the 1 Drops of FML0.1 Stored for 4 M and 40 M (A) Original. (B) Generic A. (C) Generic B. (D) Generic C. (E) Generic D. Mean $\pm$ S.D. $n = 3$. * $p < 0.05$ vs. 4 M-storage.

ように、短期保管及び長期保管ともに、程度の差はあったが、同様の傾向を示した。一方、10回混和後においても固化沈殿物がみられた後発品 B と他の点眼薬間の外観上の違いを確認したところ、後発品 B では他の点眼容器と異なり、楕円形の底面で底面の中心部が盛り上がり、周囲に溝を形成する形状であった。

2. 短期保管及び長期保管後の FML0.1 における初回 1 滴中薬物濃度の変化 短期保管品と長期保管品の各種 FML0.1 の混和回数による初回 1 滴中濃度の変化を Fig. 3 に示す。すべての製品において混和回数の増加に従い、初回の 1 滴中濃度は高まり、先発品において 1 滴あたりの薬物濃度は 10 回混和で規格値 (0.1%) の約 70% 程度であった。後発品 A と C もまた 10 回混和で規格値の約 80–90%

になったが、後発品 B の 10 回混和時の 1 滴当たりの濃度は 30% に満たず、均一に再分散されていない結果となった。一方、後発品 D は、短期保管では 10 回混和でほぼ規格値に達したが、長期保管では 1 滴中濃度が低下し、保管による再分散能の低下がみられた。長期保管で大きく 1 滴中濃度に影響が認められたのは後発品 D と混和回数が少ない時の後発品 A であった。

3. 短期保管及び長期保管後の FML0.1 における初回 1 滴中薬物粒子径と粒子径分布の変化

Figure 4, 5 及び 6 に短期保管品と長期保管品に対し 10 回混和を行った際の薬物粒子の顕微鏡画像 (Fig. 4)、粒度分布 (Fig. 5) 及び平均粒子径の変化 (Fig. 6) をそれぞれ示す。懸濁点眼剤中の粒子は $75 \mu\text{m}$ 以下と規定されているが、²⁾ レーザ回折散

Fig. 4. Image of FML0.1 Stored for 4 M and 40 M
The mixing was performed 10 times before the experiment.

Fig. 5. Changes in Particle Size Frequencies of FML0.1 Stored for 4 M and 40 M

(A) Original. (B) Generic A. (C) Generic B. (D) Generic C. (E) Generic D. The mixing was performed 10 times before the experiment. Solid line, 4 M-storage. Dashed line, 40 M-storage.

乱法での観察ではほとんど $30\mu\text{m}$ 以下であり、 $50\mu\text{m}$ 以上の粒子が認められることは稀であり、いずれの点眼液においても短期保管品を 10 回混和した際の粒度分布は、十分に混和（ボルテックスにて 10 秒混和）した際の粒度分布と大きな差はみられなかった。一方、先発品において短期及び長期保管ともに 1 滴あたりの薬物粒子径は約 $4\mu\text{m}$ であっ

た。また、後発品 B と D においても短期及び長期保管ともに先発品と同定の粒子径を示したが、後発品 A と C の粒子は先発品のものより粗粒子であった。さらに、後発品 C では短期及び長期保管ともに 10 回混和後の粒子径は同程度であったが、長期保管後の先発品 A の平均粒子径は短期保管後の約 3 倍であった。

Fig. 6. Comparison of Mean Particle Size of the Original and Generic FML0.1 Stored for 4 M and 40 M
The mixing was performed 10 times before the experiment. Mean $\pm$ S.D. $n = 3$. * $p < 0.05$ vs. 4 M-storage.

考 察

懸濁製剤を保管した際の物理的な安定性（再分散性及び粒子径）を検討することは、市販製剤の適正使用において重要である。本研究では眼領域で用いられる FML0.1 を対象に、4 又は 40 ヶ月間保管した際の薬物粒子径変化を観察するとともに、本研究法で用いた手振り混和法を用いた混和後の再分散性及び初回 1 滴中の主薬濃度の変化について検討した。

まずはじめに、4 又は 40 ヶ月間保管した製剤を簡単に懸濁した際の、1 滴あたりの薬物濃度及び再分散性についての検討を行った。本検討を適切に実施する上で試験法（混和法）を決定することは重要である。一般に混和法には以下 3 種が知られている；① 20 cm 幅の水平面を毎秒 1 往復水平振とうさせる方法あるいは男子が強く振とうする方法、³⁾ ② 容器を回転させる方法、⁴⁾ ③ 懸濁インスリン製剤の懸濁性評価で使用されるように、手のひらで水平に往復回転させた後、上下に往復させる方法⁵⁾ が採用されている。このように懸濁製剤の再分散性に関する評価方法は種々あるが、本研究では懸濁製剤の再分散性を感度よく検出するため、急激な力が加わらない混和法③ [容器をゆっくり約 45–90° の角度で手振り（混和）する方法] を採用し、検討を行った。

懸濁製剤において難溶性の内容物の沈降に対する安定性は重力と浮力のバランスによって決まり、分散質と分散媒の比重差、分散質の大きさ、分散媒の粘度などによって影響を受ける。理想的には粒子は凝集することなく、一次粒子として安定に分散し、しかも沈降することなく均一な濃度で浮遊していることが望まれる。今回、Table 2 に示すように検討を行った各種 FML0.1 のうち、後発品 A と D が正

立保管の条件下で長期保管すると底面固化沈殿物の再分散性が低下することがわかった。一方、長期保管による再分散性の低下の程度は製品で異なり、先発品と後発品 C では再分散性がよく、長期保管の影響は受け難い結果となったが、後発品 B は短期保管品でも再分散性は良好ではなかった。

次に、混和後の初回 1 滴中の主薬濃度の変化について検討した (Fig. 3)。これまでの研究では、点眼中の 1 滴中濃度あるいは 1 滴中薬物含量を複数滴の平均値で算出している例も多いが、⁶⁾ 懸濁製剤の場合は分散性の問題もあり、また服薬指導で点眼は 1 滴で十分と説明される。また、FML 製剤の製品間で 1 滴量が異なることは報告されているが、⁶⁾ その差は微量であり、かつ点眼された薬液のほとんどは涙管を通じて排泄されることから、⁷⁾ 実施的な 1 滴量の多少よりも薬物濃度が直接影響すると考えられている。このため本研究では最初の 1 滴（初回 1 滴）を対象に薬物濃度を測定した (Fig. 3)。その結果、初回 1 滴中の濃度は再分散性に影響され、先発品と後発品 B 及び C は長期保管の影響を受けなかったが、再分散性が長期保管の影響を受ける後発品 A と D は短期保管品の方が初回 1 滴濃度は高い値を示した。一方、長期保管の影響は受けにくいものの本条件では再分散性のよくない後発品 B は 10 回混和でも表示濃度の 30% 以下の値であった。

これら各種懸濁製剤の物理的安定性の違いを考察することは極めて重要である。主薬の粒子の成長性は物理的安定性において大切な因子であるが、今回検討した各種 FML0.1 の短期保管品と長期保管品の 10 回混和した粒子径を比較すると後発品 A で約 5 μm 程度の増加が認められるものの、先発品を含め他の後発品では大きな粒子径の変化は認められず

(Fig. 5), 後発品 A に関しては長期保存で主薬粒子の凝集が観察された (Fig. 4). このため主薬の粒子径の成長が直接懸濁剤の物理的な安定性への影響は少ないのではないかと考えられた. また, 粘度の影響も考えられるが, 本研究で用いた FML0.1 で高い粘度を有する製品はなく, 再分散性に及ぼす粘度の影響も考え難い. 一方, 界面活性剤あるいは水溶性高分子により分散質と分散媒の固液界面張力を低下させる方法で再分散性を向上させる方法が知られており, Yasueda らは FML0.1 に 0.0001–0.01 % (w/v) の HPMC を添加することで表面張力を低下させ, 再分散が向上することを報告している.⁸⁾ 今回用いた先発品においても添加剤として界面活性剤のポリソルベート 80 と分散剤のメチルセルロースを用いられていた (Table 1). これらは非イオン性界面活性剤だけでは十分でない再分散性を, セルロース系高分子を加えることで沈降濃縮した薬物粒子間にセルロース系高分子が介在して粒子間の接触頻度を低下させ, その働きによって薬物の凝集性を緩和し (緩凝集系), 保管時に沈殿するものの再分散性を向上させているものと考えられる.⁹⁾ また後発品 C は他の FML0.1 と異なり, 分散剤は配合されておらず, 界面活性剤のポリソルベート 80 のみを配合した処方であるが, 短期保管品, 長期保管品とも混和回数 3 回以上で再分散可能であった. この高い再分散性は平均粒子径が $10\mu\text{m}$ を超える大きな粒子を用いることで再分散性を高めているものと考察された (Figs. 4 and 6). 一方で, 後発品 A と D は分散剤としてポリビニルアルコール (部分けん化物) あるいはメチルセルロースを配合しているものの界面活性剤は配合されておらず, 長期保管による影響が認められた (Fig. 3). また, 後発品 B は界面活性剤のポリソルベート 80 と分散剤のポリビニルアルコール (部分けん化物) が用いられており, 緩凝集系を狙った処方の可能性もあるが, 再分散性は今回の被験薬の中で最も悪い結果となった (Table 2 and Fig. 3). その原因として, 後発品 B の点眼容器の形状が他の点眼容器と異なり, 底面が楕円形で底面の中心部が盛り上がり周囲に溝を形成する形状であったこと, また点眼容器はコンパクトでデザイン性はよいが容器上部に空隙が少なく, 混和 (手振り) 時に十分攪拌されていない可能性が示唆された. 界面活性剤あるいはポリマーを懸濁剤に

添加していくと, その添加濃度によって分散安定性が複雑に変化するという報告があり, 容器改良と相まって分散安定性に関して更なる検証を行い, 再分散性の高い製剤改良が可能であると思われる.

Leonard らは各種ステロイド水性懸濁点眼剤に関する報告において, 用時振とうを明記した場合でも患者の過半数はそれを遵守していないこと, また振とうされた場合でもほぼ均一な懸濁状態となる前に使用されていることなどを指摘している.¹⁰⁾ 今回の結果から FML0.1 の服薬指導時に十分な混和が必要であり, 実際に患者が点眼前に十分な混和を実行しない場合, アドヒアランスの低下が懸念される. さらに一歩踏み込んで服薬指導だけではなく, もし患者自身による手振り混和が難しく, かつ家族の支援が受けられない場合には再分散性や初回 1 滴濃度に優れた後発品を推奨する必要があると考える. さらに米国で「Patient-Focused Drug Development (患者視点の研究開発, FDA の審査もまた同様に患者視点でのリスク・ベネフィット比を重要視)」¹¹⁾の動きが強まりつつあることを考えると, 今後ますます患者視点に立つ製剤開発が重要となるだろう. 一方で, 本研究では購入後 40 ヶ月という長期保管時に懸濁分散粒子がどのような状態になるのかを観察するため, 製剤の使用期限を超えた製剤の分散安定性を評価する形となった. これら使用期限外といった因子が再分散性や初回 1 滴中濃度にどの程度影響するかについても, 今後更なる検討が必要である.

利益相反 開示すべき利益相反はない.

REFERENCES

- 1) Fujimoto M., Nakamura T., Muraoka E., *Jpn. J. Pesticide Sci.*, **7**, 499–506 (1982).
- 2) The Japanese Pharmacopoeia Seventeenth Edition, [3] Monographs for Preparations p16, 6. Preparations for Ophthalmic Application, 6–1. Ophthalmic Liquids and Solutions.
- 3) Nagatani K., Oishi T., Honke T., Shinagawa R., *J. Jpn. Hosp. Pharm. Assoc.*, **11**, 256–261 (1985).
- 4) Morishima K., Shiotani K., Japanese Unexamined Patent Application Publication No. Hei 11-279052 (1999).
- 5) Kawasaki E., Asakura T., Karasawa H., Yoh-

- koh N., *J. Jpn. Diabetes Soc.*, **55**, 753–760 (2012).
- 6) Nagatani K., Oishi T., Honke T., Shinagawa R., Iwasaki S., *J. Jpn. Hosp. Pharm. Assoc.*, **11**, 262–266 (1985).
- 7) Nakada Y., “Seizai no Tatsujin niyoru Seizaigijutsu no Denshou (Gekan) Hikeikou-touyoseizai no Seizaisekki to Seizouhou,” ed. by The Academy of Pharmaceutical Science and Technology, Jiho, Inc., Tokyo, 2013, pp. 105–115.
- 8) Yasueda S., Inada K., Matsuhisa K., Terayama H., Ohtori A., *Eur. J. Pharm. Sci.*, **57**, 377–382 (2004).
- 9) Yasueda S., Matsuhisa K., Terayama H., Inada K., Japanese Unexamined Patent Application Publication No. 2003-55262 (2003).
- 10) Leonard A., Andrew H., Lawrence M. S., *Am. J. Ophthalmol.*, **87**, 210–214 (1979).
- 11) U.S. Food and Drug Administration. CDER Patient-Focused Drug Development: <https://www.fda.gov/drugs/development-approval-process-drugs/cder-patient-focused-drug-development>, cited 20 November, 2019.