

作ることが比較的容易

- (3) 各製造メーカーとも欧州向けあるいは米国向けの製品についてそれぞれの局方に応じた試験を実際に行っており、どちらの試験法が採用されても対応が可能と思われる
- (4) 個々の規格試験について折衷案を作成すると、いずれのメーカーも現在行っていないような方法になり、かえって採用が困難
- (5) 現行のUSPがA社の製品規格、Ph.Eur.がB社の製品規格に基づいて作成されていることからすると、国際調和という観点からも望ましい

実際の作業として、組換えヒトインスリンについては、A社の製品規格、B社の製品規格、さらにはUSP規格およびPh.Eur.規格をも比較しながら、日局ヒトインスリン（遺伝子組換え）の規格試験法を作成する作業を行っている。

#### 1-4. 日局ヒトインスリン（遺伝子組換え）の各試験法

日本薬局方ヒトインスリン（遺伝子組換え）の各条の作成にあたり、問題となった点、およびその結論は以下のとおりである。

##### 1-4-1. 基原

目的遺伝子は哺乳類細胞からクローニングされたものから人工的に合成されたものまであること、遺伝子発現構成体の構築方法や種類は各社独自のもので相互に違いがあること、製造に用いられる細胞基材には大腸菌、酵母があり、将来的には哺乳類細胞の利用も否定できないことから、「遺伝子組換え技術を用いて製造されたもの」という、どの製法にもあてはまる表記を採用した。

活性値については、A社およびUSP（27.5

インスリン単位/mgより小さくない）およびB社およびPh.Eur.（標準品の95%より小さくなく105%より大きくない）のうち、前者を採用した。理由としては、(1) 27.5インスリン単位は純度として96.25%に相当しB社およびPh.Eur.の下限よりも高く、品質管理という立場から可能なら純度は高い方がよい、(2) B社およびPh.Eur.における「105%より大きくない」という規格は、標準品の純度が低い、あるいは試験的にバラツキが大きい場合であり、高速液体クロマトグラフィーにおける規格に相応しくない、(3) どの製品の実測値についてもこの数値を下回るロットは近年ない、があげられる。

##### 1-4-2. 性状

溶解性については、試験に用いる溶媒についてのみに整理して、記述している。

##### 1-4-3. 確認試験

タンパク質の一次構造の確認試験法として、アミノ酸配列分析とともに最も確実と考えられるペプチドマッピング法を採用している。ペプチドマッピング法は組換えヒトインスリンの確認試験として、いずれにも採用されていた。どの方法とも分解酵素はV8プロテアーゼを採用し、高速液体クロマトグラフィーによってフラグメントの解析を行うものである。インスリンをV8プロテアーゼで分解すると、グルタミン酸のC-末端側で加水分解が生じ、4つのフラグメントに分解する。どの方法も基本的にはこの4つのフラグメントを確認する方法であるが、B社およびPh.Eur.は「標準溶液から得られたクロマトグラムと一致する」となっていた。日局ではA社およびUSP法のように比較するピークを明確に示すとともに、さらに判定基準を明確にした以下のような表記：「試料溶液及び標準溶液50mlにつき、次の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行う。試料溶

液及び標準溶液から得られたクロマトグラムにつき、溶媒ピークの直後に溶出するピーク、及びその後に順次溶出するこれより明らかにピーク高さの大きい3本のピークを比較するとき、試料溶液及び標準溶液の各ピークの保持時間は同一であり、ピーク高さは同様である」を採用している。

なお、本法は日本薬局方の各条の確認試験としてペプチドマッピング法を採用した初めての例である。

#### 1-4-4. 類縁物質

組換えヒトインスリンの製造過程では、通常いずれの製品においてもA鎖の21番目のアスパラギン酸が脱アミド化されたデスアミド体が混入している。デスアミド体の生成は酸性溶液中で促進されるものであるが、デスアミド体そのものはインスリン本体に匹敵する活性を有しており、有害作用も持たないことが確認されている。したがって混入自体は、安全性、有効性上問題とはならない。しかし、製造工程の一定性を確認する意味から、目的物質関連物質として限度試験を設定することが求められる。また、デスアミド体、および下記の多量体以外にも、類縁物質が少量ではあるが混入する。デスアミド体を含めた多量体以外の類縁物質の測定方法としては、逆相カラムによる高速液体クロマトグラフィーが最も標準的に用いられている。いずれの試験法においてもODSの逆相クロマトグラフィーを採用し、ほぼ同様の条件で測定を行っている。各方法を比較するとB社およびPh.Eur.ではシステム適合性試験にブタインスリンを用いることとなっているが、デスアミド体の試験にわざわざブタインスリンを使用する合理性は見出せない。したがって、日本薬局方ではクロマトグラフィーの条件については、A社およびUSP法に準じた方法が採用されている。

#### 1-4-5. 高分子タンパク質

デスアミド体同様に、組換えヒトインスリンの製造工程では、二量体、多量体が生成し、最終製品に混入するのが普通である。これら二量体、多量体は特に固体状態で加湿・曝光すると生成が増加する。これら二量体、多量体の試験法としては、やはり高速液体クロマトグラフィーが適している。しかし上記類縁物質試験とは異なり、カラムとしてはゲル濾過カラムがその目的に適している。いずれの試験法を比較しても、カラム、移動層、溶出条件ともほとんど違いはなかった。したがって、日局ヒトインスリン（遺伝子組換え）についてもこれらの方法に準じた方法を採用している。

なお、システムの適合性において、「ヒトインスリン二量体 100 $\mu$ lにつき、上記の条件で操作するとき、多量体、二量体、単量体の順に溶出し、二量体のピーク高さ  $H_1$  及び二量体と単量体のピーク間の谷の高さ  $H_2$  を測定するとき、 $H_1/H_2$  が 2.0 以上である。」とし、日本薬局方における高速液体クロマトグラフィーのシステム適合性のよう、シンメトリー係数と分離度を用いて規定していない。Ph.Eur.においてこのような規定を行った理由として、この液クロの条件では、シンメトリー係数と分離度で規定するとばらつきが大きく、むしろピーク高さとの比で表す方法の方がばらつきが小さいという結果をEU内の共同研究で得たことを確認できたので、日本薬局方の収載案でも、この規定法が採用された。

#### 1-4-6. その他の目的物質由来不純物、製造工程由来不純物

バイオ医薬品については日本薬局方収載品の場合も、個々の医薬品については規制当局の承認が必要になる。個々の製品の製造方法が異なれば、目的物質に由来する不純物、製法に由来する不純物や混入物がそれぞれの製品において当然異なる可能性があるからである。そこ

で日局ヒトインスリン（遺伝子組換え）では、この点については類縁物質試験の中に、目的物質関連の不純物、および製造工程に由来する不純物の項を設け、「別に規定する」としている。ちなみに A 社規格では、基原のなかに「本品に含まれる製法由来のヒトプロインスリン及び大腸菌ポリペプチドは、適当な方法で試験を行うとき、10ppm 以下である。」と規定していた。一方、USP および Ph.Eur.は、バイオ医薬品の試験についての一般原則を参考情報等の中にまとめた上で、各条では例えば、「宿主細胞由来タンパク質 — 規格限度値については規制当局の承認をうけること」という記載方法が採用されている。

#### 1-4-7. 亜鉛含量

ヒトインスリンは、通常一量体、二量体、六量体のいずれかで存在し、水溶液中では六量体に 2 つの  $Zn^{2+}$  が結合している状態が最も安定な状態といわれている。したがって、精製工程で亜鉛を加えることがしばしば行われる。このように亜鉛含量はヒトインスリンの安定性に関係するので、規格試験法として亜鉛含量を設定する必要がある。亜鉛含量の測定法としては通常原子吸光光度法が用いられる。組換えヒトインスリンではいずれの試験でも原子吸光光度法が採用されているが、試料の溶解法に違いがある。A 社および USP 法ではフェノール、グリセリンが使われているが、操作の煩雑さからするとこれらを用いない B 社あるいは Ph.Eur.法が適切と考えられ、後者に準じた方法が採用された。

#### 1-4-8. 乾燥減量

乾燥減量の測定条件に違いがあるが、特にどちらかに合理性があるわけではなく、折衷案が作成されている。

#### 1-4-9. 強熱残分試験

Ph.Eur. (B 社規格試験) では強熱残分試験が設定されていた。しかし、組換えヒトインスリンは純度 96.25% 以上であり、強熱残分で測定するその他の無機化合物の混入は極めて微量である。したがって強熱残分を規格試験に設定する意味はもはやないと考えられた。したがって日局ヒトインスリン（遺伝子組換え）の規格試験としては強熱残分試験は設定されていない。

#### 1-4-10. エンドトキシン

USP は 10EU/mg 未満、Ph.Eur は 10 EU/mg 以下となっている。日本薬局方の一般試験法としては、エンドトキシン試験の限度値は未満で表すこととなっている。したがって 10 EU/mg 未満とされている。

#### 1-4-11. 定量法

日局インスリンでは、定量法としてはバイオアッセイ法を採用している。しかし我が国においては共同研究により、過酷条件においてヒトインスリンを分解させた場合の実験等を通じて、組換えヒトインスリンでは、ODS カラムを用いた逆相高速クロマトグラフ法の定量値とバイオアッセイ法による定量値との一致が確認されている（医薬品研究, 26, 404-412 (1995)）。欧米でも多くのロットについて両方で測定した際の定量法の相関性に関するデータが蓄積されている。このように組換えヒトインスリンについては既に長い学術的研究および製造実績の中で、類縁物質を含めた構造と活性の相関にいたるまでの十分な科学的知見を背景に、液クロ法の信頼性は確立している。そこで日局ヒトインスリン（遺伝子組換え）の定量法は、上記逆相液体クロマトグラフィーが採用された。USP 法 (A 社規格試験法), Ph.Eur.法 (B 社規格試験法) 間で、カラムの大きさ、移動層の組成、溶出条件に相違があったが、原理は同様であった。しかしながら、先に触れた

我が国における共同研究で行った液クロ条件は USP 法 (A 社規格試験法) とほぼ同様であることから、USP 法に準じた方法が日局ヒトインスリン (遺伝子組換え) の定量法として採用された。

#### 1-4-12. 貯法

貯法については A 社規格試験法と B 社規格試験法で温度条件が異なっていた。しかしメーカーとしては現在 -20℃ 以下で保存しており、USP, Ph.Eur. とともに -20℃ に改訂する予定という情報もあり、日局ヒトインスリン (遺伝子組換え) の保存条件としては、-20℃ 以下と規定された。

### 2. 日本薬局方への収載が考えられるバイオ医薬品

医薬品の中でバイオ医薬品の重要性が年々増す中、日本薬局方の各条へのバイオ医薬品の収載は必然的な流れのように思われる。ヒトインスリン (遺伝子組換え) に続く製品としての第一の候補はヒト成長ホルモンであろう。さらにエリスロポエチンが第二の候補としてあげられる。

#### 2-1. ヒト成長ホルモン

組換えヒト成長ホルモンは「下垂体性小人症」、「ターナー症候群における低身長」等に処方される医薬品であり、我が国のバイオ医薬品の中で第 2 位の売上 (600 億円: 2001 年) を示す極めて重要な医薬品の一つである。我が国において組換えヒト成長ホルモンの製品が初めて発売されて以来既に 14 年を経過している。主要薬局方への収載面からみると、Ph.Eur. には「Somatropin」として既に収載されているが、USP には未収載である。

組換えヒト成長ホルモンの場合、我が国では今まで認可をうけているメーカーは 6 グループあり、市場で激しい競争を繰り広げている。

さらに、現在複数の企業が後発メーカー (グループ) として製造を計画している。191 個のアミノ酸からなるタンパク質であり、ヒトインスリンより複雑な構造を有している。また各社の製品を比較すると、遺伝子発現構成体は異なり、細胞基材という面でも、5 社は大腸菌であるが、1 社は哺乳類細胞を用いている。したがって、局方収載にあたっては、組換えヒトインスリン以上に一つの規格及び試験方法にまとめることの困難が予想される。したがって、1-3 で述べたアプローチの中で、インスリンでは採用しなかった、複数の規格試験法の併記が必要となる可能性も考えられる。ただし定量法に関しては、バイオアッセイから HPLC 法への移行に際して、我が国の官民で共同研究を実施し、HPLC 法の条件や標準品に至るまで統一された経緯があるので、日局にはこれが採用されることが期待される (医薬品研究 25, 339-347 (1994); 同, 25, 354-362 (1994); 同, 25, 363-368 (1994); 同, 25, 369-374 (1994); 同, 25, 375-382 (1994); 同, 25, 283-293 (1994); 衛試報告 114, 130-135 (1995))。

#### 2-2. エリスロポエチン

組換えエリスロポエチンは赤血球特異的な造血因子であり、「腎性貧血」、「未熟児貧血」等に処方されるバイオ医薬品である。我が国においてはバイオ医薬品の中で第 1 位の売上 (1160 億円: 2001 年) を記録している。最初の製品の発売は 1990 年 4 月であり、12 年を経過しようとしている。主要薬局方への収載としては、USP には収載されていないが、EU では「Erythropoietin Concentrated solution」として Ph.Eur. -Supplement 1999 から収載されている。

バイオ医薬品の中で第一位の売上ながら、特許紛争の結果、現在認可をうけ国内で製造販売されているものは、2 つのグループの製品のみである。しかし欧米ではいくつかの企業グルー

プが承認を受け、さらに他のグループも参入を図っている。

日本薬局方への収載を考えた場合、我が国では組換えヒト成長ホルモンに比較すると製造グループは少なく、製品間の調整という点では容易と思われる。しかしながら、エリスロポエチンの場合、化学構造に起因した問題が生じる可能性がある。即ち、エリスロポエチンは165個のアミノ酸からなる糖タンパク質であるが、3つのN糖鎖と1つのO糖鎖がその生物活性に極めて重要な役割を果たしている。糖鎖の組成は製造メーカー間で異なり、その違いを配慮した規格試験法の設定が必要となる。その結果、製品の種類は少なくとも、統一した規格試験法を作成することは困難であることが予想される。実際、Ph.Eur.では、確認試験として、(1) 定量法と同じ方法によるバイオアッセイ、(2) 等電点電気泳動、(3) ウェスタンブロット法、(4) ペプチドマッピング、(5) N末端アミノ酸配列分析の5種類の試験法を用意しており、また定量法も2通りを設定している。我が国においては、バイオアッセイ法に関して、極めて簡便な統一法を官民共同研究で策定した経緯があるので (*Biologicals*, 20, 243-251 (1992); *Biologicals*, 20, 253-257 (1992))、少なくともこの統一法は採用される可能性が高い。

### 3. バイオ医薬品の各条収載を図るために

以上のように、今後日本薬局方への収載が検討されるべきヒト成長ホルモンおよびエリスロポエチンにおいても、バイオ医薬品としての特性ゆえに、多くの化学合成医薬品の各条のように規格試験法、および規格値を統一的に示すことが困難であることが予想される。このような場合、日局ヒトインスリン（遺伝子組換え）で採用しなかった「規格試験法の併記」のような方法も一つの方策と考えられる。

また、バイオ医薬品においては、目的物質由来不純物、製造工程由来不純物は、製造方法の

違いによって、(1) 何を試験の対象とすべきか、(2) どのような規格試験法を設定すべきか、(3) 限度規格値はどのように設定すべきか、が変わってくる。したがって個々にケースバイケースの対応が必要になる。そのためにも、バイオ医薬品の各条を設定するにあたっての一般原則、および共通に用いられる試験方法については、USP あるいは Ph.Eur. にならって、参考情報として整備しておくべきと考えられる。この点については、かつてバイオ医薬品の日局収載のあり方が論じられたが (*JP Forum* 2, 33-37 (1993))、これが参考情報作成の基盤となると考えられる。

バイオ医薬品の開発は、多額の開発費を要することもあり、製造メーカーの国際化は著しい。したがって、局方の各条への収載を行う場合も、国際間の局方のハーモナイゼーションを考慮しながら行う必要がある。そのためにも、ヒトインスリン（遺伝子組換え）での試み以上に、局方収載のための新たな戦略が必要になるものと思われる。

## E. 研究成果

1. Takao HAYAKAWA: Biotech Process Evaluation, *Proceedings of the Fifth International Conference on Harmonization San Diego 2000*, Ed. By M. Cone, Regulatory Affairs Journals LTD, pp. 73-77 (2001)
2. Takao HAYAKAWA: Perspective on assessing comparability of biotechnology products- a view from Japan- *Dev Biol Stand.*, Basel, Karger, (in press)
3. Nana KAWASAKI, Miyako OHTA, Satsuki ITOH, Masashi HYUGA, Sumiko Hyuga, and Takao HAYAKAWA: The usefulness of sugar mapping by liquid chromatography/mass spectrometry in comparability assessments of glycoprotein products. *Biologicals* (in press)

4. Shingo Niimi, Tadashi Oshizawa, Masaaki Naotsuka, Sumiaki Ohba, Akira Yokozawa, Tomoyo Murata and Takao Hayakawa: Establishment of a Standard Assay Method for Human Thrombomodulin and Determination of the Activity of the Japanese Reference Standard, *Biologicals* (in press)
5. 伊藤さつき、川崎ナナ、太田美矢子、日向昌司、日向須美子、早川堯夫：糖鎖含有タンパク質製剤の品質評価試験法に関する研究（I I I）エリスロポエチン製剤 その3. 衛研報告, 119,65-69(2001)
6. 日向昌司、川崎ナナ、日向須美子、太田美矢子、伊藤さつき、早川堯夫：表面プラズモン共鳴（SRP）イムノアッセイによるフォリスタチンの迅速定量、衛研報告, 119, 57-60(2001)
7. 早川堯夫、豊島 聡、山口照英、川西 徹：トランスジェニック動物/クローン動物を利用して製造した医薬品の安全性評価に関する研究、衛研報告, 119, 1-26 (2001)
8. 早川堯夫、真弓忠範、黒澤 努、豊島 聡、山口照英、川西 徹：トランスジェニック動物由来医薬品の品質・安全性確保に関する基礎的検討、*医薬品研究*, 32(4), 223-246(2001)
9. 早川堯夫、石井（渡部）明子：生物薬品の開発の現状とトランスレーショナルリサーチへの条件、*医学のあゆみ*, 200, 539-543 (2002)
10. 早川堯夫：薄層クロマトグラフ法、*日本薬局方技術情報（JPTI）2001*, JPTI 編集委員会編、pp.185-187 (2001), じほう, 東京
11. 早川堯夫：バイオテクノロジー応用医薬品/生物起源由来医薬品の製造に用いる細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験、*日本薬局方技術情報（JPTI）2001*, JPTI 編集委員会編、pp.278-284 (2001) じほう,
- 東京
12. 早川堯夫：バイオテクノロジーを応用した医薬品の品質および安全性確保の評価科学、*PDA Journal of GMP and Validation in Japan*, 3, 57-64(2001)
13. 早川堯夫：第十四改正日本薬局方について；医薬品各条（生物薬品）について、*医薬品研究*, 32(9), 597-603 (2001)
14. 早川堯夫、谷本 剛、山口照英、川西 徹、酒井喜代志：第十四改正日本薬局方の改正点；医薬品各条の改正点—生物薬品—、*薬局*, 52(5), 1609-1615 (2001)
15. 早川堯夫：バイオテクノロジー製剤の特徴と品質上のポイント、*医薬品開発評価の基礎と臨床*、*医薬品開発評価の基礎と臨床研究会編*, pp.411-442 (2001), デジタルプレス, 東京
16. 早川堯夫、山口照英、石井（渡部）明子、押沢 正：核酸増幅法によるウイルスゲノム等検出に関するフィージビリティスタディ、*医薬品研究*（印刷中）
17. 早川堯夫、山口照英、押沢 正：日局生物薬品の品質・安全性確保に関する研究 —ウイルス安全性確保の基本要件—、*医薬品研究*（印刷中）

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）

分担研究報告書

生薬に関する試験方法ならびに各条の

改正と国際調和に関する研究

分担研究者 関田節子 国立医薬品食品衛生研究所筑波薬用植  
物栽培試験場長

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）  
分担研究報告書

生薬に関する試験方法ならびに各条の改正と国際調和に関する研究

分担研究者 関田節子 国立医薬品食品衛生研究所筑波薬用植物栽培試験場長

中国との薬局方生薬の調和研究が、韓国の参加の要望に発展し、更にアジアの6カ国1地域に広がりつつある。参加国の合意事項として、薬局方調和は、先ず研究段階の相互理解が基本であることを認識した。そこで、本年度は、第14改正日本薬局方の追補に収載が予定されている品目の確認試験法について検討した。本研究は、ソウル市において開催された会議で「Quality Control and Development of Crude Drugs in Japanese Pharmacopoeia」のタイトルで、生薬の微生物試験法、アリストロキア酸の定量法とともに紹介した。

#### A. 研究目的

薬局方の相互理解を深めて品質の向上を図るために、中国、韓国と試験方法ならびに各条について情報を交換し、国際調和に向けて交流を重ねている。中国とは、共通項目について同一サンプルを分割し両国の試験法を互いに実施し、分析法や規格値の調和の可能性を検討している。韓国とは両国の収載品目を比較し、試験法、規格項目、規格値の設定方針等について検討している。これらの活動は周辺諸国の関心を呼び、WHO 西太平洋地域事務所からの働きかけにより、日・中・韓・ベトナム・シンガポール・オーストラリア・香港の6カ国1地域での薬局方調和の試みへ発展しつつある。広い地域での薬局方の調和は、生薬の品質の向上、安定供給に寄与するものと考えられ、これに基づき、欧米での生薬拡大に伴う規格設定にさきがけて、生薬を原料とする医薬品の流通

が国際的に円滑になる。しかし、参加諸国の薬局方の制定段階には違いがあるため、各国の歴史的な背景を理解する必要がある。また、これらの調和が実効をあげるためには科学的な生薬の評価が重要であると認識し、現在進行中の薬局方改正に伴う研究を重点とした。そこで、我々は薬局方設定に関わる研究内容を紹介するために、第14改正日本薬局方追補に収載予定の品目であるテンモンドウの確認試験法の検討を行った。

#### B. 研究方法

現在国内流通している中国市場品貴州省産テンモンドウ4検体（検体番号1～4）を使用した。乾燥した検体番号1（19.8g）をメタノールで2日間冷浸し、ろ過後、ろ液を濃縮し得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付した。展開溶媒はク



クロロホルム/メタノール混液でグラデ  
ィエント溶出し、50-60%メタノール  
/クロロホルムで溶出した分画を濃縮  
後、水で懸濁しブタノールで抽出した。  
ブタノール層を濃縮後、さらに中圧  
液体クロマトグラフィーにて100%水  
を展開溶媒として精製した。さらに  
高速液体クロマトグラフィーによる  
精製を行い、**1** (13mg) および **2** (15mg)  
を得た。

(呈色試薬の検討) TLC上にみられ  
る成分としては糖類とステロイドサ  
ポニンが現れたので、10%硫酸試液を  
噴霧し加熱後の呈色を検討した。

(展開溶媒の検討) サポニン類の展  
開には、順相のTLCにおいてクロロホ  
ルム/メタノール/水混液が一般に多  
く用いられるが、第14改正日本薬局  
方よりクリーンアナリシスの観点か  
らクロロホルムの使用は避けられて  
いる。そこで、クロロホルムの代用と  
して酢酸エチルを検討した。

### C. 研究結果

**1** および **2** の  $^{13}\text{C}$ -NMRにおける化学  
シフトはほぼ一致していたが、 $^1\text{H}$ -NMR  
において一部異なる部分が見られた。  
そこで、2次元NMR(DQFCOSY, HMQC,  
HMBC)を検討した結果、 $^1\text{H}$ -NMRにおけ  
る異なる部分は25位周辺のプロトン  
で、**1** および **2** は25位のエピマーであ  
ると推定された。それぞれを酸加水  
分解して得られたアグリコンの**1-A**お  
よび **2-A** は22位と26位がエーテル結  
合を介して閉環するため、25位周辺  
のシフト値が大きく異なり、**2-A** の化学

シフト値がdiosgeninと完全に一致し  
たことから、**2** は protodioscin、**1** は  
asparasaponin I と決定した。両化合  
物は、試料1から4まですべてに主ス  
テロイドサポニンとして含まれてい  
た。したがって、この2つの化合物が  
指標成分になると考えられ、これら  
を指標としてTLCによる確認試験の検  
討を行った。

(呈色試薬の検討) 10%硫酸試液を  
噴霧し、加熱後の呈色を検討した結果、  
糖類は黒く呈色し、ステロイドサポ  
ニン類は赤褐色に呈色することから、  
両化合物は明確に区別できた。

(展開溶媒の検討) 酢酸エチル/メ  
タノール/水混液(8:6:1)を検討した  
が、ステロイドサポニンのスポット  
がテーリングしてしまうため、適当で  
はないことが分かった。また、逆層  
(ODS)のTLCも含め、種々検討した  
結果、*n*-ブタノール/水/酢酸混液が  
最も適当であることが分かった。し  
かしながら、主ステロイドサポニンで  
ある**1** および **2** はいかなる展開溶媒  
を用いても同じ*R<sub>f</sub>*値を与えた。

(展開溶媒の検討) 試料1を用いて  
抽出溶媒の検討をしたところ、生薬  
の抽出溶媒として一般に良く用いら  
れるメタノールでは糖類が強く呈色  
してしまい、他のスポットを確認す  
ることが困難になることが分かった。  
エタノールおよび *n*-ブタノールで抽  
出すると、ステロイドサポニン類が  
抽出されにくく、スポットとして確認  
できなかった。なお、アルコール類  
と加熱することによりメタノリシス

を起こす可能性を避けるために、室温で振盪することのみで抽出を行った。そこで、次に、含水ブタノール（水と *n*-ブタノールを合わせて振盪し、分液した後のブタノール層）、*n*-ブタノール/メタノール混液（3:1）および *n*-ブタノール/水混液（9:1）を検討したが、指標とする **1** および **2** はほとんど抽出されなかった。*n*-ブタノールと水が均一に混和する限界である *n*-ブタノール/水混液（40:7）で抽出するとメタノール単独で抽出した場合と比べて糖類の呈色が抑えられ、**1** と **2** の呈色が明確に現れた。また、水浴上 50 度で 30 分温浸した場合と室温で 30 分冷浸した場合を比較しても、大きな差がないことが分かった。したがって、抽出条件は、室温で *n*-ブタノール/水混液（40:7）で行うのが最適と判断した（Fig. 1）。

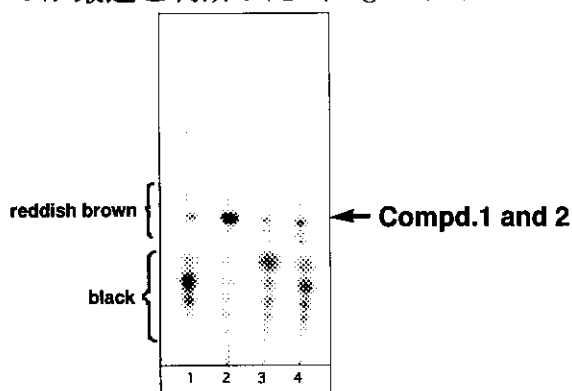


Fig. 1 TLC Chromatogram of sample 1~4

以上の結果より、テンモンドウの確認試験法を以下のように提案した。  
「本品の粗切 1.0 g に *n*-ブタノール/水混液（40:7）5mL を加え、30 分間

振り混ぜた後、ろ過し、ろ液を試料溶液とする。この液につき、薄層クロマトグラフ法により試験を行う。試料溶液 10  $\mu$ L を薄層クロマトグラフ用シリカゲルを用いて調製した薄層板にスポットする。次に *n*-ブタノール/水/酢酸混液（10:6:3）を展開溶媒として約 10cm 展開した後、薄層板を風乾する。これに希硫酸を均等に噴霧し、105 $^{\circ}$ C で 2 分間加熱するとき、*Rf* 値 0.42 付近に最初赤褐色のちに褐色を呈するスポットを認める。」

#### D. 結論

中国市場品テンモンドウの成分を検討した結果、2 種類のステロイドサポニンが指標になることが分かり、それによって現在日本薬局方外生薬規格収載のテンモンドウの確認試験を TLC にて行うことが可能になった。テンモンドウは今後、日本薬局方に収載される可能性が高く、今回の TLC による確認試験法が採用されることが期待される。

**厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）**

**分担研究報告書**

**理化学試験法及の改正と国際調和に関する研究**

**分担研究者 中村 洋 東京理科大学薬学部教授**

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）  
分担研究報告書

理化学試験法の改正と国際調和に関する研究

分担研究者 中村 洋 東京理科大学薬学部教授

**研究要旨** 第十四改正日本薬局方（日局14）施行後に発足した薬事・食品衛生審議会日本薬局方部会において、来るべき第十五改正日本薬局方の作成方針が策定され、5本の柱が設定された。国際調和の推進は5本柱の一つであり、最新分析法の積極的導入は標準品の整備とともにこれらの柱の中核をなす作成方針である。理化学試験法委員会では、これらの作成方針を念頭に置いて、既記載の理化学試験法の見直しと新規試験法の採用について検討を行った。その結果、既記載の試験法では、①赤外吸収スペクトル測定法、②ビタミンA定量法、③ヒ素試験法などの改正に向けて検討を行うこととし、新規試験法としては、①導電率測定法、②近赤外分光法、③質量分析法、④サイズ排除クロマトグラフィーなどの記載に向けて検討を行うこととした。さらに、液体クロマトグラフ法などで要請の強い⑤分析装置のシステム適合性試験のあり方についても鋭意検討することとした。

本研究では、新規試験法として導電率測定法を取り上げ、EPの“Conductivity”をベースとして検討し、共同実験を経て成案を得ることができた。また、既記載の試験法の改正については、赤外吸収スペクトル測定法およびビタミンA定量法を取り上げて検討し、それぞれ成案を得ることができた。

**A. 研究目的**

本研究は、ICH（医薬品承認審査ハーモナイゼーション国際会議）やPDG（薬局方検討会議）を軸とした国際調和の流れの中から浮き彫りにされた課題や日本薬局方自身が抱える課題のうち、一般試験法（理化学試験法）の充実と国際化を目的とする。

今年度は、日局14第一追補に向けて理化学試験法の改正と新規記載に関する検討を行う過程で提起された、赤外吸収スペクトル測定法とビタミンA定量法の見直し、ならびに導電率測定法の新規記載についての検討を行った。

**B. 研究方法**

**1. 赤外吸収スペクトル測定法の見直し**

東京医薬品工業協会技術委員会（6社）、大

阪医薬品協会技術研究委員会（5社）、装置メーカー（5社）および国立医薬品食品衛生研究所大阪支所の協力を得て、波数目盛りの補正などについて共同実験を行った。装置メーカー5社（島津製作所、日本分光、パーキンエルマー、堀場製作所、日本電子）より提供された同一の5枚のポリスチレン膜について、それぞれが使用している装置（FT-IR形または回折格子形）を用いて、空気を対照に赤外吸収スペクトルを繰り返し3回測定し、指定された波数付近の特性吸収波数を小数点以下1桁まで求め、各測定値、平均値および標準偏差を求めて、代表的な赤外吸収スペクトルチャートとともに提出してもらった。その際、測定対象とした吸収波数は、EPに採用されている3060.0cm<sup>-1</sup>、2849.5cm<sup>-1</sup>、1942.9cm<sup>-1</sup>、1601.2cm<sup>-1</sup>、1583.0cm<sup>-1</sup>、

1154.5cm<sup>-1</sup>および1028.3cm<sup>-1</sup>であった。測定条件は以下の通りとした。

- (1) FT-IR形装置：分解能 2cm<sup>-1</sup>，測定範囲 4000～400cm<sup>-1</sup>，積算回数 20回，縦軸は透過率（％）
- (2) 回折格子形装置：測定範囲 4000～400 cm<sup>-1</sup>，縦軸は透過率（％）

## 2. ビタミンA定量法の見直し

日本大衆薬工業協会に加盟し、ビタミンA製剤を製造している7社より日局収載の「ビタミンA定量法」に関する運用の実状と問題点を聴取し、改正案をまとめた。

## 3. 導電率測定法の新規設定

医薬品添加剤として用いられている日局第二部収載品目「精製白糖」および「結晶セルロース」が国際調和の対象品目として取り上げられ、日局13においてそれらの規格が改められた。この改正で、純度試験中に新たに「電気伝導率」の項目が設けられ、原薬中に混在する塩類の総量が電気伝導率として規定された。ところが、日局には一般試験法に導電率測定法が規定されていないため、医薬品各条の中で対応せざるを得なかった。そこで、東京医薬品工業協会技術委員会と大阪医薬品協会技術研究委員会の協力を得て、EPの一般試験法“Conductivity”を下敷きとした「導電率測定法」新規設定のための共同実験を以下の3課題について実施した。

- (1) セル定数の一致を「5％以内」とすることは適当か？
- (2) 装置の適合性を確認する場合、標準液の与える導電率は規定された数値に「2％以内」で一致し、繰り返し測定 of 相対標準偏差を「3％以下」とすることは適当か？
- (3) 塩化カリウム標準液の導電率に対する温度補正式は適当か？

## C. 研究結果

### 1. 赤外吸収スペクトル測定法の見直し

赤外吸収スペクトルの測定を依頼した製薬企業の全てにおいてFT-IR形の装置しか稼働しておらず、5枚のポリスチレン膜の測定結果はどの膜についても3回とも全く同じ測定結果を与えた。すなわち、測定対象とした波数に対応した測定値は、それぞれ3058.9cm<sup>-1</sup>，2848.7 cm<sup>-1</sup>，1942.2cm<sup>-1</sup>，1600.8cm<sup>-1</sup>，1582.5cm<sup>-1</sup>，1154.3cm<sup>-1</sup>，1028.0cm<sup>-1</sup>であり、各波数における標準偏差はいずれも0cm<sup>-1</sup>であった。

これらの知見を基に検討した結果、「装置及び調整法」の記述を以下のように改めるのが適当であると結論した。

改正前 『波数目盛りは、通例、ポリスチレン膜の下記の特性吸収波数（cm<sup>-1</sup>）のうち、いくつかを用いて補正する。なお、（ ）内の数値はこれらの値が定められたときの測定精度を表す。

3027.1（±0.3） 2924（±2） 以下省略』

改正後 『波数目盛りは、通例、ポリスチレン膜の下記の特性吸収波数（cm<sup>-1</sup>）のうち、いくつかを用いて補正する。なお、（ ）内の数値はこれらの値の許容範囲を示す。

3060.0（±1.5） 2849.5（±1.5） 1942.9（±1.5） 1601.2（±1.0） 1583.0（±1.0） 1154.5（±1.0） 1028.3（±1.0）』

ただし、分散形装置を用いる場合の許容範囲は、1601.2cm<sup>-1</sup>における吸収波数が 1601.2±2.0cm<sup>-1</sup>、1028.3cm<sup>-1</sup> における吸収波数が 1028.3±2.0cm<sup>-1</sup>にあることとする。』

（JP Forum, 10, 288 (2001) 参照）

### 2. ビタミンA定量法の見直し

日本大衆薬工業協会に加盟する企業から意見を聴取したところ、現状は現行の日局「ビタ

「ミンA定量法」の第1法、第2法に従って試験を行ってはいるが、少なからぬ問題点を抱えており、速やかな改正を希望していることが判明した。問題点としては、操作が複雑で熟練を要する、精度が低い、検体処理能力が小さい、真値かどうか分からないなどが指摘された。一方、このような状況の下で、液体クロマトグラフ法が代替法としてビタミン複合製剤などの分析に使用されているのが実状であり、その日局への収載が期待されていることが分かった。そこで、現行の第1法を「第1法-1」とし、新たに液体クロマトグラフ法を「第1法-2」として追加することとした。また、試験法中の「試薬」の項を削除し、現行の第1法で使われていた「2-プロパノール」は「ビタミンA定量用2-プロパノール」として一般試験法の試薬・試液に規定することとした。

### 3. 導電率測定法の新規設定

#### (1) セル定数の一致を「5%以内」とすることは適当か？

12機関の協力を得て、セル定数0.1cm-1または1cm-1の浸漬形セルを用い、2種の塩化カリウム標準液（0.0149gKCl/1000.0g および 0.0746gKCl/1000.0g）の20℃における電気抵抗 $R_{KCl}$  (mega $\Omega$ ) 又はコンダクタンス $G_{KCl}$  ( $\mu$ S) を測定し、次式を用いてセル定数Cを求めた。

$$C = R_{KCl} \cdot \kappa_{KCl}$$

$$\text{または } C = \kappa_{KCl} / G_{KCl}$$

ここで、 $\kappa_{KCl}$ は用いた塩化カリウム標準液の導電率 ( $\mu$ S) である。

上記の測定を5回繰り返し、各測定で得られたセル定数および用いたセルに予め与えられていたセル定数 ( $C_0$ ) との偏差 $\Delta C$ およびその相対値 ( $C/C_0$ , %) を求めた。その結果、

低濃度の塩化カリウム標準液 (0.0149gKCl/1000.0g) を測定した場合の $C/C_0$ は1機関で7.06%であったものの、残りの13機関の全てが5.00%以内であり、平均値は2.83%であった。高濃度の塩化カリウム標準液 (0.0746gKCl/1000.0g) の測定においては、1機関の $C/C_0$ が4.21%であるのを除き、他の13機関では何れも2.72%以内であり、平均値は1.47%であった。

#### (2) 装置の適合性を確認する場合、標準液の与える導電率は規定された数値に「2%以内」で一一致し、繰り返し測定の相対標準偏差を「3%以下」とすることは適当か？

塩化カリウム標準液を測定した場合の導電率 ( $\kappa_{exp}$ ) の標準導電率 ( $\kappa_{0KCl}$ ) への一致性を14機関で実験し $\Delta \kappa / \kappa_{0KCl}$  (%) で評価した。ここで、 $\Delta \kappa = \kappa_{exp} - \kappa_{0KCl}$  である。

はじめに、低濃度の塩化カリウム標準液 (0.0149gKCl/1000.0g) を用いた場合の一致性は、14機関平均で2.86%であったが、高濃度の塩化カリウム標準液 (0.0746gKCl/1000.0g) を用いた場合には4機関が2%以上の値を与えたが、14機関平均では1.53%であった。このように、装置の適合性を確認する場合の基準として、標準液の導電率を測定して規定された数値に「2%以内」で一一致することを採用することは、ほぼ妥当と判断された。

次に、繰り返し測定の相対標準偏差を「3%以下」に抑えられるかどうかにつき、同じく14機関で共同実験を行った結果、14機関平均の相対標準偏差は低濃度の塩化カリウム標準液 (0.0149gKCl/1000.0g) については2.95%、高濃度の塩化カリウム標準液 (0.0746gKCl/1000.0g) については1.83%となり、何れも導電率測定の繰り返し精度を「3%以下」と規定することが適当である結果を与えた。

### (3) 塩化カリウム標準液の導電率に対する温度補正式は適当か？

EPにおいては、導電率の温度補正式として次式を採用している。

$$\kappa_T = \kappa_{20} [1 + 0.21 (T-20)]$$

T：測定温度

$\kappa_T$ ：T℃における塩化カリウム標準液の導電率

$\kappa_{20}$ ：20℃における塩化カリウム標準液の導電率

そこで、上記補正式の妥当性を検証する目的で、8点の測定温度（14℃、16℃、18℃、20℃、22℃、24℃、26℃、28℃）における2種類の塩化カリウム標準液の導電率測定を14機関で実施した。

その結果、低濃度の塩化カリウム標準液（0.0149gKCl/1000.0g）の測定における導電率（ $\kappa_T$ ）と測定温度（T）との関係は、

$\kappa_T = 0.5572T + 15.546$ （ $r = 0.969$ 、 $n = 14$ ）を与えた。一方、高濃度の塩化カリウム標準液（0.0746gKCl/1000.0g）における両者の関係式は、

$\kappa_T = 2.7844T + 76.855$ （ $r = 0.994$ 、 $n = 14$ ）となった。

これらの結果は、EPが使用している塩化カリウム標準液の導電率に対する温度補正式が少なくとも14～28℃の測定範囲においては適当であることを示すものである。

### D. 考察

本研究は、ICH（医薬品承認審査ハーモナイゼーション国際会議）やPDG（薬局方検討会議）を軸とした国際調和の流れの中から浮き彫りにされた課題や日本薬局方自身が抱える課題のうち、一般試験法（理化学試験法）の充実と国際化を目的とするものである。このうち、既

収載の試験法については、赤外吸収スペクトル測定法、ビタミンA定量法、ヒ素試験法などの改正に向けた検討を行うとともに、新規試験法としては電導率測定法、近赤外分光法、質量分析法、サイズ排除クロマトグラフィーなどの収載に向けた検討を行うのが適当であり、さらに、液体クロマトグラフ法などで要請の強い分析装置のシステム適合性試験のあり方についても鋭意検討することが必要と考えられた。

今年度は、日局14第一追補に向けて理化学試験法の改正と新規収載に関する検討を行う過程で提起された、赤外吸収スペクトル測定法およびビタミンA定量法の見直し、ならびに導電率測定法の新規収載についての検討を行い、それぞれ当初の目的通りの成果を挙げることができた。しかしながら、日本薬局方の一般試験法をEPやUSPと比較した場合、質・量ともに十分とは言えず、早急に収載試験法の種類を充実し、最新分析法を導入する必要がある。この点に十分に配慮し、年次計画で一般試験法の充実を図っていくことが肝要と思われる。

### E. 研究発表

なし

### F. 知的所有権の取得状況

なし

厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）

分担研究報告書

物性試験法及の改正と国際調和に関する研究

分担研究者 松田芳久 神戸薬科大学教授



厚生科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）  
分担研究報告書

物性試験法の改正と国際調和に関する研究

分担研究者 松田芳久 神戸薬科大学教授

**研究要旨** 粉末状原薬及び添加剤の粉体物性の評価方法を確立するために、各種の試験法が USP 及び EP から提案されている。日本薬局方でもこれらの動向を踏まえて国際調和のための新しい試験法を可及的速やかに収載すべく検討を重ね、これまでに粉体粒度測定法（第1法 ふるい分け法、第2法 光学顕微鏡法）及び比表面積測定法を収載してきた。本研究においては、「かさ密度及びタップ密度測定法」を一般試験法として制定するために EP から提案されている国際調和案を詳細に吟味・検討し、この結果を踏まえて日局 14 第一追補に収載するための最終原案をまとめることができた。

今回の日局原案は、本測定法によって得られた物性値を、粉体の充てん性、圧縮性、流動性等の尺度となる重要な特性値の一つとして位置づけることによって、原薬や添加剤の品質評価基準の確立と製剤工程における円滑性の確保をはかるものである。かさ密度の測定は、メスシリンダーに入れた質量既知の粉体試料のかさ体積を測定する方法（第1法定質量法）と容量既知の容器に充てんされた粉体の質量を測定する方法（第2法定容量法）のいずれかを用いることとした。一方、試料を入れた測定容器を機械的にタップすることにより得られる、みかけ密度として表されるタップ密度についても、かさ密度の場合と同様の第1法定質量法に加えて、第2法として、日局独自のタップ密度測定用容器を用いた定容量法を策定した。この測定法を国際調和案に対しても逆提案した結果、日局案は調和STAGE 4 案に採択されることになった。

A. 研究の背景と目的

医薬品原薬や製剤用添加剤の大多数は固体状であるが、これらの粉体物性（粒子径、粒度分布、比表面積、粒子密度、流動性、充てん性、圧縮性など）が最終剤形の製剤特性に密接に関係し、ひいては製剤のバイオアベイラビリティにも著しい影響を及ぼすことはよく知られている。これらの事実を踏まえて、USP や EP においては既にいくつかの粉体測定法が収載されているが、同時に合理的で科学的妥当性に基づいた一般試験法の国際調和の必要性がPDG（薬局方検討会議）において認識されつつあり、活発な調和作業が進められている。

このような状況の中で、日局においても基本的で緊要性が高い測定法として、既に粒度分布測定法<sup>1,2)</sup>と比表面積測定法<sup>3)</sup>を一般試験法として収載したが、本研究では粒子集合体としての物性の中でも重要な位置を占め、かつ製剤工程の円滑性や固形製剤の製剤特性（質

量偏差、含量均一性）と直接に関係する、かさ密度及びタップ密度測定法を確立し薬局方の国際調和に資する目的で研究を行った。

B. 研究方法

1. 関連資料の検索と内容の調査

日局原案を策定するにあたって、まずEPから提案された”Bulk Density and Tapped Density” Stage 3: Proposal の内容を十分に検討し、かさ密度及びタップ密度の考え方、試料量、測定方法及び測定条件の観点から問題点を抽出した。また、国内における他の工業分野において制定されている同種の規格測定法（JIS）についても検索・調査するとともに、粉体測定機器メーカーにより作成された資料、さらに本主任研究者が2種類の試験器を用いて測定条件の違いが測定結果に及ぼす影響について検討した結果<sup>4)</sup>等も参考にした。

2. タップ充てんにおける測定条件設定のための実験  
日局バレイショデンプンと酸化マグネシウムを各種の質量比で混合して流動性を変化させた試料について、一定のタップ充てん条件下で充てんし、タップ密度の経時的变化を追跡した。タップ密度が平衡に達するまでのタップ回数を試料間で比較するとともに、データから得られたみかけの充てん速度定数と安息角との関係から、充てん性と流動性の相互関係を検討した。

### C. 研究結果

#### 1. 本測定法の定義

かさ密度及びタップ密度測定法の定義は、以下のとおりに定めた。

『かさ密度及びタップ密度測定法は、それぞれ粉末状医薬品の疎充てん時及びタップにおけるみかけの密度を測定する方法である。』

また、かさ密度及びタップ密度については、それぞれ以下の定義を確立した。

かさ密度：容器中に粉体を圧密せずにゆるやかに充てんすることにより得られるみかけの密度。

タップ密度：粉体試料を入れた測定容器を機械的にタップすることにより得られるみかけの密度。

#### 2. かさ密度測定法

第1法（定質量法）又は第2法（定容量法）のいずれかにより測定することとした。

第1法の概略は以下のとおりである。

『保存中に形成された凝集体をあらかじめ解砕しておいた一定質量（M：約30g）の試料を、100mLガラス製メスシリンダーに圧密せずに入れ、必要ならば、粉体層の上面を圧密せずにならした後、かさ体積（ $V_0$ ）を読み取る。次式によりかさ密度 $\rho_B$ を計算する。

$$\rho_B = \frac{M}{V_0} \quad \text{』}$$

第2法の概略は以下のとおりである。

『保存中に形成された凝集体をあらかじめ解砕しておいた試料を、容量V、質量 $M_0$ の測定容器内にあふれるまで流下させる。容器の上部に堆積した過量の粉体をスライドグラスなどで注意深くすり落とし、さらに容器の側面に付着した試料も除去した後、容器内の試料質量Mを求める。次式によりかさ密度 $\rho_B$ を計算する。

$$\rho_B = \frac{M}{V} \quad \text{』}$$

#### 3. タップ密度測定法

第1法（定質量法）又は第2法（定容量法）のいずれかにより測定することとした。

第1法の概略は以下のとおりである。

『保存中に形成された凝集体をあらかじめ解砕しておいた一定質量（M：約100g）の試料を、250mLガラス製メスシリンダーに圧密せずに入れ、タップ密度試験器にセットした後、それぞれの試験器で規定される測定条件（タップ速度及び落下高さ）でタップを行う。連続する2つの測定値間の差が直前の測定値に対して2%未満となるまで50回ずつ又は1分間ずつタップを繰り返す。この時の最終かさ体積 $V_f$ を求める。次式によりタップ密度 $\rho_T$ を計算する。

$$\rho_T = \frac{M}{V_f} \quad \text{』}$$

第2法の概略は以下のとおりである。

『保存中に形成された凝集体をあらかじめ解砕しておいた試料を、容量V、質量 $M_0$ のステンレス製測定容器に補助円筒（図1）を装着し、その容器内に試料を十分量注入する。一定の落下高さが得られる適当なタップ試験器に容器をセットした後、それぞれの試験機で規定された測定条件（タップ速度及びタップ回数）で試験を行う。次に、補助

円筒を外し、容器の上部に堆積した過量の粉体をスライドガラスなどで注意深くすり落とす。容器の側面に付着した試料を除去した後、容器内の試料質量Mを求める。次式によりかさ密度 $\rho_T$ を計算する。

$$\rho_T = \frac{M}{V}$$

測定は繰り返し3回行うが、相対偏差が2%以上の場合、タップ回数を変えて試験を繰り返す。』

#### D. 考察

液体試料の場合とは異なって、不規則な形状と粒度分布をもつ多数の粒子から成る粉体の物性を測定するにあたっては、いずれの物性についてもデータの再現性確保に十分に注意する必要がある。これらの物性の中でも、かさ密度はとくに再現性において問題があるので、測定条件（試料の注入方法、容器の材質、形状及び寸法）の厳密な設定が不可欠である。

定質量法の場合、試料量は30gとしたが、医薬品粉末（とくに添加剤）の中にはきわめてかさ高い試料も多いので、30gが多すぎる場合には、かさ体積が60~100mLとなるように試料の質量を調整してもよい、とした。また、定容量法においては、EP Stage 3案ではASTM B-329-90(Scott Volumeter)に準拠したかさ密度測定法も第2法として提案しているが、日局ではScott Volumeterが国内では入手できないとの理由により、本法は採用しないことにした。これに代わって図1に示した測定容器を用いた定容量法を新たに提案した結果、Stage 4案においては日局案が第3法として採用されている。第3法は一旦、補助円筒の上部まで粉体を充てんした後、注意深く円筒を外し、下部の測定容器の上面をすり切った際に容器内に充てんされた試料量からかさ密度を測定する方法であるが、容器内での粉体の充てん構造は一般に深さによって異なるため、本法のように一定の深さにおいて粉体層をすり切る方法は、データの再現性を確保するためには最良といえる。

一方、タップ密度で示される粉体の充てん性は、従来

から流動性と密接な関係にあることが知られているので、この関係を検証するためにBで述べた各種の混合粉体試料について安息角を測定したところ、バレイショデンプンは微細な酸化マグネシウムをごく微量混合することにより安息角が急激に低下して流動性が著しく改善されたが、安息角には極小値が認められて流動性は再び悪化する傾向を示した（図2）。このような粉体試料をタップ密度試験器にセットして一定回数毎にかさ密度を測定すると、かさ密度が平衡値に達するタップ回数は試料によって異なるが、高々100回タップすればほぼ平衡値となることが半明した（図3）。そこで、これらのデータを久野の式 $[(\rho_n - \rho_0) = (\rho_f - \rho_0) \exp(-kn)]$ に代入して得られたみかけの充てん速度定数kを図2と同様に酸化マグネシウムの添加濃度に対してプロットした（図4、図5）。このようにして得られた図2と図5を比較すると、添加濃度に対する両者の増減傾向は互いに逆となっており、かつ両者はきわめてよく対応していることが分かった。すなわち、流動性と充てん性は互いに裏腹の関係にあることになり、流動性の良否が製錠機やカプセル充てん機への充てん性に影響を及ぼすことが容易に推測される。

図3からも明らかなように、タップ密度を何回まで測定すればよいかという問題はきわめて重要である。Stage 3案における“最初500回タップし、・・・更に750回・・・”は多すぎるように思われる。このため、日局では、タップ回数は明記せず、“連続する2つの測定値の差が直前の測定値に対して2%未満となるまで50回又は1分間ずつタップを繰り返し、この時の値を最終かさ体積とする”ことにした。なお、「2%」という判定基準の妥当性を検証するために、定容量法を用いてバレイショデンプンと結晶セルロースについて充てん質量の変化を測定したところ、表1に示すように、いずれの試料の場合も積算タップ180回に次いでさらに180回タップすれば、十分に基準値以下に収まることが半明した。また、3回の測定値のばらつきも少なく、補助円筒を用いた定容量法がタップ密度測定法としてきわめて有用であることが確認された。

Stage 3 案において用いられている装置や測定法は、特定の機器メーカーで製造されている装置の定数や測定条件に基づいているが、この条件に適合する装置は国内では製造されていないため、国際調和案としては不適切である。したがって、日局では一般試験法としての汎用性を保持するために、“それぞれの試験器に規定される測定条件（タップ速度及び落下高さ）を用いて行う。”とした。

#### E. 研究発表

- 1) 松田芳久：第十三改正日本薬局方第一追補について—物性試験法委員会に関連する薬局方改正について—, 医薬品研究, 29, 486-494 (1998).
- 2) 松田芳久, 綿野 哲：平成12年度「日本薬局方の

試験法に関する研究」研究報告—粉体粒度測定法第1法 光学顕微鏡法におけるデータ処理に関する研究—, 医薬品研究, 33, 231-238 (2002).

- 3) 松田芳久：第十四改正日本薬局方特集, 粉体物性に関連する試験法の改正点, 薬局, 52, 1567-1569 (2001).
- 4) 松田芳久：平成10年度「日本薬局方の試験法に関する研究」研究報告—かさ密度及びバタップ密度測定法の規格化に向けての予備的検討—, 医薬品研究, 30, 559-562 (1999).

#### F. 知的所有権の取得状況

なし

図1

