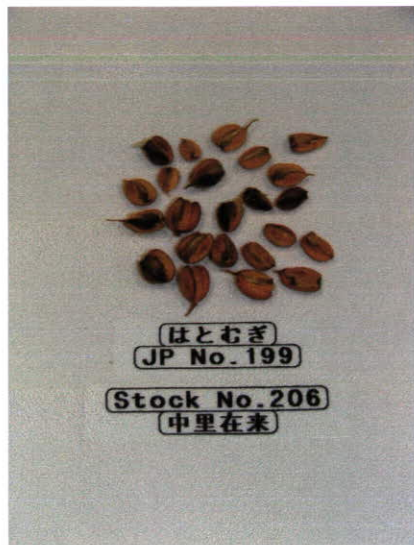
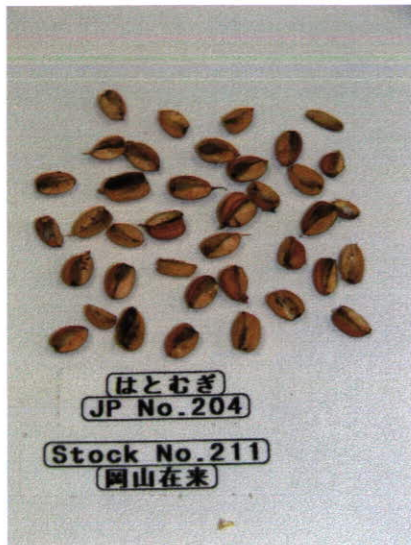


中里在来種



岡山在来種



向江田在来種



インドネシア・スマトラ産



医薬基盤研 北のはと



局方 ヨクイニン



タイ産 ハトムギ



ジュズダマ 香川県産



図2 各種ハトムギ在来種、市販ハトムギ、局方ヨクイニン及びジュズダマのヨウ素でんぷん反応

日本薬局方等医薬品基準の国際ハーモナイゼーションに関する研究

一 医薬品添加剤の試験法及び各条規格の改正と国際調和に関する研究一

分担研究者 吉岡澄江 国立医薬品食品衛生研究所 薬品部第二室室長

薬局方各条における医薬品添加剤の *functionality related characteristics* (FRC) の意義と規格化について検討した。添加剤は、製剤中に処方された後、様々な *functionality* を発揮するので、それを左右する物理的性質である FRC は添加剤の品質特性として極めて重要である。しかし、FRC と製剤の *functionality* との関連は複雑であり、また同一添加剤でも用途の違いにより、品質保証の上で重要あるいは必須の FRC に大きな差がでることが、他の化学薬品各条規格と全く異なる添加剤独自の特徴である。これらの事実を踏まえて、日本薬局方としては、製剤の *functionality* に関連する添加剤の各条には、FRC の試験法を収載する方向を支持するが、特定の品目以外については基準値を定めず判定基準とはしないこと、ラベル表示も用途により意味のない場合が生じることを十分考慮すること、各条に記載された試験も用途により実施しないでよいという共通理解を行政及びユーザーが持つようにすること、などを提案したい。

A 研究目的

医薬品添加剤は、全世界で多くの医薬品に共通に使われ、流通が極めて国際的であるため、先進諸国の薬局方に添加剤の品質に関する情報を規格として収載する意義は極めて大きく、国際調和が強く望まれている。

医薬品添加剤は、人体に対する作用が緩和ないしは無害であるという特徴とともに、医薬品製剤の必須の構成成分として、薬物療法におけるコンプライアンスや、有効成分の体内送達を確保するという重要な役割を全面的に担っている。そして、それらの役割を演じているのは、医薬品添加剤の持つ特異的な物性（機能性関連物性、*functionality related characteristics*、FRC）であることから、近年、薬局方国際調和を通じてそれらの FRC の、薬局方各条での取扱い、さらには規格化することの可否などについての議論が盛んに行なわれるようになった。

元来、薬局方における各条規格は、各条品目の有する物理的、化学的特性や純度について使用者に必要な情報を提供し、望ましい品質水準を示すために設定される。それは、製品の中で優れたものを特定し選択するのに役立terるといふ目的を有している。

望ましい水準は、生理活性成分ではその有効性と安全性を念頭において設定されるが、医薬品添加剤については安全性とともにその機能性関連物性を考慮して設定される。

ところで、欧州薬局方 (EP) 委員会は、日本及び米国に先駆けて、数年前より、医薬品添加剤の FRC をその各条に入れようとする作業を開始した。それに対して添加剤メーカー団体から強い反対意見が出された。かれらは、基本的には添加剤の供給元とユーザー間の相互合意の問題である領域に局方が立ち入ることに疑問を呈している。

1990 年以来続いている医薬品添加剤の国際調和は、最近順調に進みつつあるが、FRC の各条収載についてはかなりの議論が予想される。このような状況のもと、本年度の研究として、目前に迫った国際調和作業での日本薬局方 (JP) の取り組みに必要な問題点を明らかにすることを試みた。

B 研究方法

EP が FRC を各条規格の中に、必須ではない *non-mandatory section* として収載しようとする計画に対して、現在までに、添加剤メーカー

の団体より強い反対が表明されている。米国薬局方 (USP) および JP は、これに対して直接賛否の意見を表明してはいない。したがって、この問題について評価を行うにあたっての情報は、主に EP 委員会と添加剤メーカー団体 (国際添加剤協会、IPEC) から発信されたものに限定される。

医薬品添加剤の FRC については、まだ理解の不足している部分も多いので、本報告では先ず、FRC の意味や特色について各方面の見解を総合して紹介し、次いで EP の提案とそれに対する賛否の議論を検討して、JP における FRC の取り扱い方を考察した。

## C 研究結果と考察

### 1. 医薬品添加剤の Functionality について

#### 1.1 FRC 試験の基本的意義

品質的に優れた製剤を設計するためには、添加剤、有効成分および製剤プロセスを理解し、また、それらがどのように相互作用するかを理解することが必要である。医薬品開発において添加剤の特性と限界を理解することは、製剤の設計と開発において有効成分の性質を知ることと同じくらい重要である。

添加剤は不活性成分ではあるが、有効成分と多様に相互作用し、製剤のインビトロおよびインビボ挙動に影響する。原料とプロセス、それらの変動、さらにそれらの相互作用の適切な理解が不足することにより、製剤化の断念、不必要なほど多様な製剤の試作、物理化学的特性 (安定性、溶解性、溶出プロファイル) の悪化などに繋がる。

添加剤が、製剤の製造やその後の挙動にどのように影響するかについての理解を良くする手段として、添加剤の FRC を試験することが必要であることは、これまでの経験から長い間提案されてきている。

#### 1.2 FRC に関する情報の現状 規格書

現在、各国の薬局方を始めとする規格書や行政の指針は、FRC については殆んど情報を提供していない。薬局方の規格は、化学成分の分析純度は示しているが、物性試験は限られており、しかもそれらは FRC を間接的にしか反映していない。

たとえば、ある原料の密度や粒子径によって、その流動性に関する見識はある程度得られる

けれど、ある特定の工程で製造されるときに、また処方他に他の成分が存在する状態で製造されるときに、製剤に与える特性についての情報は得られない。

#### 製剤メーカー

添加剤のユーザーである製剤メーカーは、添加剤の FRC といわれるものについての情報を殆んど得ていない。分析担当者が、異なる供給元からの添加剤の同等性を確認するために徹底的に前試験を行うことが通常であり、そしてこれらを製造に使うときに、FRC 値の変動が、ある製剤の機能性に影響するが、他の製剤では影響しないということをしばしば体験する。

#### EP と USP

EP はこれらの試験を、必要と思われる各条に non-mandatory として記載し始めた。それらが多くの場合に添加剤の性能として重要であるために、non-mandatory とは言いながら、これらの試験を考慮すべきであると推奨している。

USP も添加剤の性能試験 (performance testing)、特に崩壊性、成型性および潤滑性に関する general chapter を入れることを検討しており、それが labeling section の一部で、non-mandatory になる可能性を示唆している。

#### 1.3 FRC の意味と特色

##### Functionality は製剤中での機能

添加剤の functionality を定義するのは、見かけほど易しくない。これまでの国際的な論争は functionality 及び FRC が真に意味するところに関する問題に集中している。

すべての添加剤は製剤に処方されて、ある機能や目的を果たす。そうでなければ、処方には入れられない。今日では、添加剤の functionality とは、製剤の stability や identity や delivery や processability に対する添加剤の寄与のことを指す。したがって、実際の functionality は添加剤自身が本来持っている性質だけでなく、処方やプロセスの詳細に関係してくる。すなわち、functionality が添加剤自身の持つ性質の範囲を超えてしまう。添加剤だけ切り離された状態で保証された functionality などは存在しないということになる。

言い換えれば、製剤に、ある意図した目的をもって添加剤を加える場合に、それがその処方におけるその添加剤の functionality であると

もいえる。

このように **functionality** が、どちらかという  
と主観的判断に左右されることがあるという  
事実にも関わらず、製剤メーカーは、添加剤の  
規格を設定することによって、常に同等の  
**functionality** が得られるのであれば、それによ  
って製剤の恒常的な品質レベルを保証したい  
と考える。それは、製剤の **functionality** に関連  
した物理的特性が、制御可能である場合にいえ  
ることであり、その場合には薬局方で規格化す  
ることが望ましい。

### 複雑な機能

多くの添加剤は、もともと多機能であり、  
様々なグレードに造られる。添加剤を製剤に処  
方する目的は多様であるから、供給元がそれら  
すべてに合致する **FRC** を測定するのはほとん  
ど不可能である、という主張が添加剤メーカー  
からは出されている。

たとえば、微結晶セルロース (**MCC**) は成型  
性があるが、成型とは関係なく、崩壊を助ける  
こともある。このような機能に着目する必要も  
あるとすれば、**FRC** として膨潤力とか他の水和  
特性も測定することが必要だということにな  
ってしまう。

### 用途はユーザー次第

複雑性に加えて、添加剤ユーザーである製剤  
メーカーは、その添加剤をどのように使おうと  
するのかを供給元に伝えないこともある。供給  
元が本来は意図していないような応用に使わ  
れることもあるから、必要な **FRC** を設定する  
のは必ずしも容易ではない。

#### 1.4 優れた添加剤とは

先に述べたように、薬局方の各条規格が、各  
条品目の有する物理的、化学的特性や純度につ  
いて、使用者に必要な情報を提供し、望ましい  
品質水準を示すために設定され、それが、優れ  
たものを確認し選択するという目的を有して  
いるとすれば、優れた添加物の定義もある程度  
定めておかなければならない。

添加剤に関して、大方の同意が得られている  
優れた添加剤は、次の4つの基準を満たすと  
いわれている。

- ① 多機能であること。それらは通常、流動促  
進剤、滑沢剤、付着防止剤、結合剤、崩壊剤な  
どの2つ以上の機能を一つの成分で合わせも  
つ。
- ② 少量の使用でも機能性を発揮し、バッチサ

イズの増大や薬物含量の増大を可能にするよ  
うな、高い性能を持っていること。

③ 複雑な **processing** は必要とせずに、直接圧  
縮プロセスで理想的に働くこと。

④ 自らが有している高度の性能特性を、処方  
された製剤全体に均等に発揮すること。

これらの特性を有している場合には、何らか  
の規格上の記載によって、その旨の情報を薬局  
方利用者に伝えることも考慮すべきなのか  
もしれない。

## 2. **FRC** の各条への取り込みについて **EP** の提 案とその反響

### 2.1 **EP** の作業

**EP** は、添加剤の各条でその物質の確認、純  
度、含量についての規格を設定するばかりでは  
なく、最終製剤の製造性や挙動に影響を与えそ  
うな物理的特性をもつ添加剤の各条に、**FRC** と  
いう見出しのもとにその物理的特性を収載す  
る。ただし **FRC** に関しては **non-mandatory** と  
し、試験実施を必須とせず、判定基準にも用い  
ないとすることを提案し、既に一部実行してい  
る。

同時に、粉体の粒子径のような新しい **FRC**  
を導入し、添加剤の意図された用途にしたがっ  
てそれらを収載する。これによって、**FRC** が薬  
局方使用者に有用な情報として働くという考  
えである。

原則として、局方の **general chapter** に既に  
ある、あるいは近い将来入れられる適切な方法  
を、**FRC** セクションに示す。この新しいセクシ  
ョンは、**EP** 利用者である製剤メーカーおよび  
行政機関のための情報として与えられるとい  
うことが明記されている。

なお、各条への **FRC** の収載の他に、**EP** は  
**FRC** に関する情報提供のための **general**  
**chapter** を作成している。その最新のバージョ  
ンは2007年3月に **EP** 委員会によって採択さ  
れた。この **chapter** の意図するところは、局方  
のユーザーに **FRC** の概念について知らせ、特  
定の各条の **FRC section** の適切な利用法を説明  
することである。

### 2.2 **EP** 提案に対する賛否意見

現在までのところ、上記の **EP** の提案対し  
て賛否両論があるが、添加剤メーカーは概して  
**FRC** を各条に収載することには反対している。

#### **FRC** の重要性は理解

ただし、添加剤メーカーも、FRC 試験の必要性や、それが製剤の品質に対して持つ重要性については十分理解している。すなわち、PAT や Quality by Design を行っている製剤メーカーが、キーとなる FRC 特性の変動を理解し、添加剤メーカーが供給できる FRC の恒常性に基づいて、最適な処方やプロセスを設定することには支持を表明している。

### 基本的に必要な FRC は収載

また、FRC の中でも、添加剤の基本的なタイプを同定するのに必要な物理的特性（ポリマーの粘度や置換度など）を各条に収載することについての反対意見はない。むしろ、各条の中の mandatory section に入れる方が良く、添加剤メーカー側も主張している。

### General chapter

さらに、添加剤の特性を各条に収載するのではなく、添加剤の適切な特性を評価するための系統的なプロセスについての指針や、それに関連した試験法で、ある特定の医薬品の応用に役立つような試験法についての指針を示すような general chapter を薬局方に設定することには賛成する意見が多い。現に、USP はこの対処法に沿って chapter を作る努力を始めているように見える。

### **2.3 添加剤メーカーの反対理由**

添加剤メーカーの意見は IPEC に代表されるが、添加剤各条に FRC 試験を収載することは、局方が non-mandatory だと明記するか否かにかかわらず、間違った方法だとして反対している。反対の理由は幾つかあげられているがその主なものを示す。

### Non-mandatory だといっても理解されない

多くの場合、添加剤を購入するのは、分析部門ではなく、行政からのコメントを心配して局方規格の遵守しか考えない購入部門である。彼らは規格全体をみて、必要であろうとなかろうとすべてを要求する。

### 用途による試験選択ができない

用途から見て不要な試験、たとえば、乳糖をフィルムコーティングで利用する場合には、粒子径は全く必要がないが、乳糖の各条に粒子径が FRC として載っていると、必要がなくてもその試験を行わなければならない。

現行の各条は確認や純度のための、かなり単純な項目を対象としているが、FRC は各条品目の使用目的によって重要性の意味が異なる可

能性があり、各条に一律に入れることは困難という一般論が多く出されている。

### 不要な試験を促し必要な試験がおろそかになる

上記のような場合、意図する使用には必要のない試験を、製品にコストを上積みしてでも、添加剤ユーザーやメーカーが行うことになる、と確信する意見が多い。

さらに、そのようなことになれば、真に問題になる特性を同定するために必要な工程開発評価を、やる必要がないのだと、ユーザー会社に思わせてしまうことになるかもしれない、ともいわれている。

### ユーザーの責任

IPEC の見解で、EP 見解との大きな違いは、添加剤にとっての適切な FRC は、特定の医薬品とその製造プロセスに関して責任があるユーザーが決めるべきものであって、ユーザーだけが特定の添加剤についての FRC 試験の持つ意味を知っている。一般的に適用できる FRC についての規格などは、どんな添加剤にもないという考えである。

### 規格と異なる FRC 製品を失う恐れ

製剤に処方する場合、規格化された FRC が望ましいわけではない場合もある。局方規格に示された物質とわずかに異なる FRC 値の添加剤を必要とする少数のユーザーがその製品を失うことになる場合もある。

### 国際調和への影響

各条規格の国際調和に際しては、往々にして最も厳しい規格に行きつくことになる。たとえ USP が FRC 規格を入れなくても、EP が入れるのであるから、行政の立場から見て、調和を維持するために、EP にしたがってすべてを行わなければならないのではないか。

## **3. JP 各条への FRC 取り込みに関する考察**

以上すべて来た FRC の意義および最近の EP の提案に対する賛否の論議等を踏まえて、日本薬局方各条における FRC の取扱についてあるべき方向を考察した。

### **3.1 局方各条での FRC の現状**

各条の規格は、安全性の見地から許容される品質を規定するために設定することが必須である。各国薬局方では多くの場合、化学的純度試験が FRC の試験によって補足されてきた。例えば、高分子の見かけの粘度や置換度などの

ただし、添加剤メーカーも、FRC 試験の必要性や、それが製剤の品質に対して持つ重要性については十分理解している。すなわち、PAT や Quality by Design を行っている製剤メーカーが、キーとなる FRC 特性の変動を理解し、添加剤メーカーが供給できる FRC の恒常性に基づいて、最適な処方やプロセスを設定することには支持を表明している。

#### 基本的に必要な FRC は収載

また、FRC の中でも、添加剤の基本的なタイプを同定するのに必要な物理的特性（ポリマーの粘度や置換度など）を各条に収載することについての反対意見はない。むしろ、各条の中の mandatory section に入れる方が良いと、添加剤メーカー側も主張している。

#### General chapter

さらに、添加剤の特性を各条に収載するのではなく、添加剤の適切な特性を評価するための系統的なプロセスについての指針や、それに関連した試験法で、ある特定の医薬品の応用に役立つような試験法についての指針を示すような general chapter を薬局方に設定することには賛成する意見が多い。現に、USP はこの対処法に沿って chapter を作る努力を始めているように見える。

#### 2.3 添加剤メーカーの反対理由

添加剤メーカーの意見は IPEC に代表されるが、添加剤各条に FRC 試験を収載することは、局方が non-mandatory だと明記するか否かに

能力があり、各条に一律に入れることは困難という一般論が多く出されている。

#### 不要な試験を促し必要な試験がおろそかになる

上記のような場合、意図する使用には必要のない試験を、製品にコストを上積みしてでも、添加剤ユーザーやメーカーが行うことになる、と確信する意見が多い。

さらに、そのようなことになれば、真に問題になる特性を同定するために必要な工程開発評価を、やる必要がないのだと、ユーザー会社に思わせてしまうことになるかもしれない、ともいわれている。

#### ユーザーの責任

IPEC の見解で、EP 見解との大きな違いは、添加剤にとっての適切な FRC は、特定の医薬品とその製造プロセスに関して責任があるユーザーが決めるべきものであって、ユーザーだけが特定の添加剤についての FRC 試験の持つ意味を知っている。一般的に適用できる FRC についての規格などは、どんな添加剤にもないという考えである。

#### 規格と異なる FRC 製品を失う恐れ

製剤に処方する場合、規格化された FRC が望ましいわけではない場合もある。局方規格に示された物質とわずかに異なる FRC 値の添加剤を必要とする少数のユーザーがその製品を失うことになる場合もある。

#### 国際調和への影響

試験は健康リスクを直接表すものではないが、最終製剤の安定性や体内挙動にとっては非常に重要な添加剤特性である。

したがって、添加剤各条の多くにおいては、最終製剤の製造と挙動にとって必要な物理的特性としての FRC の記載は原則として必要である。またそれらのいくつかは限度値を記載しても良いと考える。

### 3.2 FRC 各条収載の目的

各条に FRC を収載する意図は、重要な物理特性についての適切な測定法を示すことである。決して一定値の、あるいは一定範囲内の FRC をもつように定めるためではない。

したがって、できるだけ適切な試験方法を記載することが必須である。しかし原則として許容基準値等は記載せず、判定基準としないことを明記する必要がある。

なお、FRC の試験法を各条に収載する必要性は、ある添加剤が複数の製造者によって幾つかのグレードで市販されている場合などでは、かなり高いと考えられる。たとえば、ステアリン酸マグネシウムの比表面積、無水乳糖の粒子径およびかさ密度などである。

FRC についての適切な試験法の記事は、添加剤の供給元とユーザーである製剤メーカーとの間の情報伝達に役立つことは間違いない。

### 3.3 FRC に規格値をつける場合

これまでの PDG で同意されたセルロース誘導体の国際調和各条では、見かけの粘度の測定方法を記載しており、表示しなければならない名目上の粘度の許容基準を示している。例えばヒプロメロースの各条にある見かけの粘度試験は、望んでいるグレードのヒプロメロースかどうかをユーザーが確認できるようにするために必要である。これは確認試験の一つとも考えられる。したがってその試験は各条中の判定基準となる部分 (mandatory 部分) に残される。

他の場合でも、局方に記載された十分確立している許容基準に基づいてそれぞれの規格を作っている場合には、高分子の表示上の粘度の許容基準を規格値としても良いと、添加剤の製造者とユーザーの両者が考えている。

### 3.4 ラベル表示

FRC について、試験法のみを記載して規格値を定めないという観点から見て、添加剤供給者とユーザーとの間の情報を確実に伝えるために、各条にラベル表示の要求をすることは望ま

しいという考えもある。しかし、添加剤が、多目的に使用され、用途が異なる場合には問題の FRC が全く関係なくなることがあることを考えると、ラベル表示を各条で求めることにも矛盾が生じる。

ラベル表示は、用途が一定であり、その用途に対して FRC 測定値が大きな意味を持つ場合に限定されるべきであると考えられる。

### 3.5 各条か general chapter か

セルロース誘導体であるヒプロメロースの置換度の測定法が、PDG で 3 局間の国際調和の課題として論じられた。この例では、FRC として、置換度と見かけの粘度に関するかなり大量の記載がある。

FRC 試験法を個々の各条に記載せず、general chapter に集めることは、薬局方のユーザーにとっては必ずしも便利とはいえないであろう。多くの場合、最善の FRC 試験法はその添加剤に特有であるからである。もちろん、粒子径分布のように general chapter に記載できるような、かなり単純な FRC もある。しかし、このような例は僅かであり、特定の各条に記載することを原則とすることが望ましいと考える。

### 3.6 医薬品製造の新しいガイドラインから見た FRC の取扱い

FRC に関する記載を添加剤各条の中に入れてようとする考えは、ICHQ8 ガイドライン案など、新しいガイドラインに示されている医薬品製造における最近の発展の流れから見ても妥当であると考えられる。これらのガイドラインには、承認申請にあたり、選択した添加剤やその濃度を明示し、最終製剤の製造プロセスや機能性に関与する添加剤の特性を示すべきだとされているからである。

さらに、ICHQ8 ガイドラインの主要な意味合いは、行政当局と企業が、” quality by testing ” から、製剤の life cycle にわたってプロセスを積極的に理解し改善する ” quality by design ” へと移行することにある。添加剤の物理的および化学的特性の変動などの処方の変動も quality input 変動として考慮されなければならない。そして、適切な規格設定の基礎として、添加剤の FRC と製剤の functionality の関係を調べなければならない。

### 3.7 IPEC の反対意見に対する見解

最近の EP 提案に対する IPEC からの反対意

見を 2.3 に紹介したが、それらに対する考え方をまとめてみたい。

IPEC の反対意見の最も大きいものは、記載されている FRC が non-mandatory であると明記されていても、ユーザーの希望あるいは知識のないものの判断により、収載されたすべての FRC のために、必要のない余分の試験をさせられる可能性が大きいというものである。現にそのような経験があるという。

これは "non-mandatory" の解釈の徹底不足であって、判定基準としないこと、必要な場合にのみ必要な試験を選択できること、などが、添加剤の供給、使用、あるいは評価にかかわるすべての関係者の共通認識となれば解決されると考えられ、それはさほど長時間を要するとは思えない。この問題で薬局方への FRC 収載の本質についての論議を乱すことがあってはならない。

添加剤品質、特に FRC の試験は添加剤ユーザーである製剤メーカーの責任であるという意見があるが、それは当然である。行うべき試験は医薬品製造の場から決められるべきであり、決して薬局方が決めるものではない。

規格を決めるとそれを外れる有用な添加剤が入手し難くなるという指摘は、FRC の試験法だけ決めて規格値を定めず、またラベルも要求しなければ問題は起こらない。

ある国の薬局方の添加剤各条に FRC が収載されることで各条の国際調和を困難にするというコメントがあるが正しくない。FRC に関しては、他の特殊な項目と同様、採用の有無は各薬局方に任されている。むしろ今後、FRC に関する議論が PDG で活発に行われ、添加剤の各条への収載が検討できれば、非常に有益であると考えられる。

#### D 結論

薬局方各条の中で、医薬品添加剤の FRC の意義と規格化について検討した。添加剤は、製剤中に処方された後、様々な functionality を発揮するので、それを左右する物理的性質である FRC は添加剤の品質特性として極めて重要である。

しかし、FRC と製剤の functionality との関連は複雑であり 1 対 1 には対応しない。また同一の添加剤でも用途の違いにより、品質保証の上で必要となる FRC に差がでることが、他の

化学薬品各条規格とは全く異なる添加剤独自の特徴である。

これらの事実を踏まえて、日本薬局方の見解としては、

① 添加剤の FRC は、処方された製剤における functionality を左右するが、最適な FRC 値は添加剤製造側と添加剤ユーザーとしての製剤メーカーの間で確認すべきものである。

② 添加剤の FRC は、処方された添加剤の特色を表わす重要な項目であり、差別化、用途別の選択、品質の保証にも重要であるので、薬局方での添加剤の各条に、FRC の試験法を収載する方向を支持する。

③ 添加剤の基本的なタイプを同定するのに必要な物理的特性（ポリマーの粘度や置換度など）で、望ましいグレードを確認するための FRC は、基準値（範囲）を設定する。

④ 上記③以外については基準値を定めず判定基準とはしない (non-mandatory とする) ことが望ましい。

⑤ ラベル表示は、上記③のような場合には必要であるが、用途により表示の意味がない場合が生じるので、原則としては要求しない。

⑥ 各条に記載された試験も、添加剤としての用途次第では、すべてを実施する必要はないという共通理解を、行政及びユーザーが持つべきである。などを提案したい。

#### E. 健康危険情報

なし

#### F. 研究発表

研究発表

##### 1. 論文発表

1) Yoshioka, S., Aso, Y., Kawanishi, T.: Wide-Ranging Molecular Mobilities of Water in Active Pharmaceutical Ingredient (API) Hydrates as Determined by NMR Relaxation Times. J Pharm. Sci., (2008) in press.

2) Maitani Y., Aso Y., Yamada A., Yoshioka S.: Effect of sugars on storage stability of lyophilized liposome/DNA complexes with high transfection efficiency. Int. J. Pharm., (2008) in press.

3) 吉岡澄江、阿曾幸男、川西徹:平成18年度「日本薬局方の試験法に関する研究」研究報告書—水分吸



着曲線の解析による局方収載添加剤の吸湿性に関する研究－医薬品研究, (2008) 39, 51-56.

4) Yoshioka, S., Miyazaki, T., Aso, Y., Kawanishi, T. : Significance of Local Mobility in Aggregation of  $\beta$ -Galactosidase Lyophilized with Trehalose, Sucrose or Stachyose. Pharm. Res., (2007) 24, 1660-1667.

5) 吉岡澄江、阿曾幸男、川西徹:平成17年度「日本薬局方の試験法に関する研究」研究報告書－水分吸着曲線の解析による局方収載添加剤の吸湿性に関する研究－ 医薬品研究, (2007) 38, 228-234.

6) Yoshioka S., Aso Y. : Correlations between Molecular Mobility and Chemical Stability During Storage of Amorphous Pharmaceuticals. J. Pharm. Sci., (2007) 96, 960-981.

7) Miyazaki T., Yoshioka S., Aso, Y., Kawanishi T. : Crystallization rate of amorphous nifedipine

analogues unrelated to the glass transition temperature. Int. J. Pharm., (2007) 336, 191-195.  
8) Aso Y., Yoshioka S., Miyazaki T., Kawanishi T., Tanaka K., Kitamura S., Takakura A., Hayashi T., Muranushi N. : Miscibility of nifedipine and hydrophilic polymers as measured by  $^1\text{H-NMR}$  spin-lattice relaxation. Chem. Pharm. Bull., (2007) 55, 1227-1231.

#### G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

厚生労働科学研究費補助金  
(分担) 平成 19 年度報告書

ICP-AES 分析による金製剤投与ラットの体毛動態解析に関する基礎検討

(1) Au(III)の濃縮および回収条件の検討

分担研究者 中村 洋 東京理科大学薬学部

研究要旨

高周波誘導結合プラズマ発光分光法 (ICP-AES) は約 80 種類の元素の同時定量が可能である。本研究は金チオリンゴ酸ナトリウムなどの金属含有医薬品のラットにおける吸収・分布・代謝・排泄に関する研究に ICP-AES を活用し、内在性金属との相互作用を含め、従来知られていない生体内金属ダイナミズムを解明することを目的とする。さらに、このような手法を用いて金属含有医薬品投与患者毛髪中金属濃度の測定を行い、これを指標としてコンプライアンスの評価が可能かどうかを評価する。上記研究を遂行するには、動物の体毛あるいはヒト毛髪に移行した金属含有医薬品およびその代謝物の濃度が極めて低いことが想定されたため、試料を灰化後に Au(III)の濃縮・捕捉が必須と考えられた。そこで、本年度はイオン交換カートリッジを用いて Au(III)を濃縮するための条件を種々検討し、「pH 2.0 に調整した試料溶液 10 mL を DEAE カートリッジに通し、カートリッジに吸着した Au (III) を 0.5 M 亜硫酸アンモニウム水溶液 5 mL で溶離する」手法を確立し、定量的に Au(III)を回収することに成功した。

A. 研究目的

高周波誘導結合プラズマ発光分光法 (ICP-AES、Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry) は無機金属元素の代表的な分析法であり、(1) ほとんどの元素について超微量レベルの分析ができる、(2) 検量線の直線範囲 (ダイナミックレンジ) が 4 ~5 桁と広い、(3) 多元素を同時かつ迅速に分析可能である、(4) 広範囲の元素について高感度・高精度に定量ができる、などの特徴がある。このような分析化学的長所を有する ICP-AES は、材料分析をはじめ最近では環境分析などの分野においても益々普及しつつあり、製薬産業における分析法としても有望と思われる。

本研究は、ICP-AES が日本薬局方一般試験法に記載されることを前提として、その有効性をラットに経口投与した金属含有医薬品の体内動態解析を通して検証することを目的とした。本年度は、ラットに経口投与した関節リウマチの治療薬、金チオリンゴ酸ナトリウム (Fig. 1) の体毛および組織への移行を検討するための基礎検討として、試料溶液中からの Au(III)の選択的捕集・回収条件、Au(III)の ICP-AES による定量条件などに検討を加える。

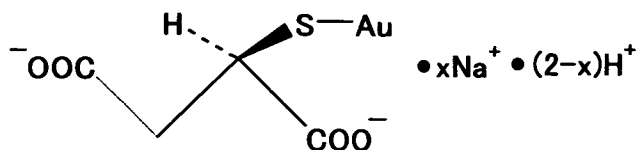


Fig. 1 Structure of sodium aurothiomalate

## B. 研究方法

### 1) ICP-AES 装置及び測定条件

ICP-AES には SPS7800 (セイコーインスツルメンツ) を使用し、アルゴンプラズマ条件は Rf 周波数 27.12 MHz, Rf 出力 1.2 kW, プラズマガス流量 16 L/min, 補助ガス流量 0.7 L/min, キャリアーガス流量 0.4 L/min, プラズマ観測高さはコイル上 15 mm とした。

### 2) Au (III) の濃縮条件の検討

ラットの体毛への金製剤の移行濃度が ICP-AES の検出限界付近である可能性があったため、まず無機金属標準溶液を試料溶液として Au (III) の濃縮条件の検討を行った。

金属元素の濃縮法には、溶媒抽出法、共沈法、蒸発濃縮法、樹脂を用いる方法などがある。溶媒抽出法は、イオンとして水溶液中に溶解している金属元素にキレート試薬などを加えて有機溶媒中に抽出する方法である。共沈法は、目的元素を共沈剤 (Zr, Ga, In など) が用いられる) とともに沈殿させて濃縮する方法である。蒸発濃縮法は水分を蒸発させて濃縮する方法である。樹脂を用いる方法には、キレート樹脂やイオン交換樹脂を用いる方法がある。本研究では、操作の簡便性や使用する試薬の入手のしやすさなどを考慮した結果、イオン交換樹脂を用いる方法を適用して Au (III) の濃縮条件の検討を行った。

#### 2-1) 陰イオン交換樹脂を用いた Au (III) の濃縮条件の検討

陰イオン交換樹脂である DEAE を用いて Au (III) の濃縮条件の検討を行った。金属は通常水溶液中で陽イオンを形成するが、金属と他の化合物が結合して陰イオン化している場合や、Au のように水溶液中で陰イオンを形成する場合には陰イオン交換樹脂を用いる濃縮法も有用である。DEAE と塩化金酸イオンが結合すると Fig. 2 のような構造となる。陰イオン交換樹脂として TOYOPAK DEAE (東ソー製) を用いた。TOYOPAK DEAE は親水性のポリマーゲルに DEAE (ジエチルアミノエチル) 基を導入した陰イオン交換樹脂を充填したカートリッジである。

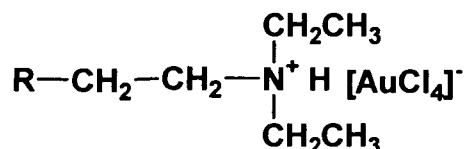


Fig. 2 Adsorption of tetrachloroaurate onto DEAE resin

### 2-1-1) 最適 pH の検討

DEAE カートリッジへの吸着は pH 依存性であるので、まず試料溶液の最適 pH の検討を行った。pH を 2.0~12.0 にまで変化させた Au を含む試料溶液を調製し、各々の試料溶液を DEAE カートリッジに通し、pH が Au (III) の吸着率に及ぼす影響を調べた。

実験操作は以下の通りである。シリンジに DEAE カートリッジを結合させ、イオン交換水で数回洗浄した。試料溶液は Au 標準原液を Britton-Robinson の緩衝液で希釈して 10 ppm としたものを 10 mL 調製した。試料溶液の pH は 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0, 11.0, 12.0 の 11 種類に調製し、各々の場合で同様の実験を行い、試料溶液の pH が DEAE カートリッジへの Au の吸着率に与える影響を調べた。シリンジを通して DEAE カートリッジに試料溶液を導入し、試料溶液中の Au (III) を DEAE カートリッジに吸着させた。カートリッジを通過した溶液を ICP-AES で測定し、各々の pH における Au (III) の DEAE カートリッジへの吸着率を算出した。ICP-AES の測定条件を Table 1 に示す。

Table 1 ICP-AES conditions

ICP-AES apparatus	: SPS 7800 ( Seiko Instruments Inc. )
Plasma conditions	
Rf frequency	: 27.12 MHz
Rf power	: 1.2 kW
Coolant gas	: 16 L/min Ar
Auxiliary gas	: 0.7 L/min Ar
Carrier gas	: 0.4 L/min Ar
Observation height	: 15 mm above work coil
Nebulizer	: Concentric type

### 2-1-2) 試料溶液量の検討

次にどの程度の量の試料溶液を DEAE カートリッジに通せば最も高い吸着率が得られるのかを調べた。シリンジに DEAE カートリッジを結合させ、イオン交換水で数回洗浄した。試料溶液は Au 標準原液を Britton-Robinson の緩衝液(pH 2.0)で希釈して 10 ppm としたものを調製した。試料溶液の量は 10, 20, 30, 40, 50 mL の 5 種類とし、試料溶液量を変化させて各々の場合における DEAE カートリッジへの Au (III) の吸着率の変化を調べた。シリンジを通して DEAE カートリッジに試料溶液を導入し、試料溶液中の Au (III) を DEAE カートリッジに吸着させた。カートリッジを通過した溶液を ICP-AES で測定し、各々の場合における Au (III) の DEAE カートリッジへの吸着率を算出した。

### 2-1-3) 最適溶離液の検討

2-1-2.までの試料溶液に関する条件の検討結果より最適な条件で Au (III) を DEAE カートリッジに吸着させ、様々な溶離液で DEAE カートリッジに吸着した Au (III) を溶離させ、どの溶離液が最も適切かを検討した。即ち、シリンジに DEAE カートリッジを結合させ、イオン交換水で数回洗浄した。試料溶液は Au 標準原液を Britton-Robinson の緩衝液(pH 2.0)で希釈して 10 ppm としたものを 10 mL 調製した。シリンジを通して DEAE カートリッジに試料溶液を導入し、試料溶液中の Au (III) を DEAE カートリッジに吸着させた。次にカートリッジに吸着した Au (III) を各々の溶離液で溶離させ、溶離液を ICP-AES で測定し、各々の場合における Au (III) の回収率を算出した。

#### 2-1-4) 濃縮倍率の検討

2-1-3 節では、試料溶液量と溶離液量が共に 10 mL であるので、事実上濃縮が行われていない。そこで、2-1-3 節の結果より、0.5 M 亜硫酸アンモニウム水溶液を溶離液として用いて、濃縮倍率の検討を行った。シリンジに DEAE カートリッジを結合させ、イオン交換水で数回洗浄した。試料溶液は Au 標準原液を Britton-Robinson の緩衝液(pH 2.0)で希釈して 10 ppm としたものを 10 mL 調製した。シリンジを通して DEAE カートリッジに試料溶液を導入し、試料溶液中の Au (III) を DEAE カートリッジに吸着させた。次にカートリッジに吸着した Au を 0.5 M 亜硫酸アンモニウム水溶液で溶離させた。溶離液は 500  $\mu$ L を 1 フラクションとして 20 フラクション (10 mL) まで溶離させた。各フラクションを精製水で 5 mL に希釈して ICP-AES で測定し、Au (III) の回収率を算出した。

#### 2-1-5) Au (III) の選択濃縮性の検討

実際の体毛試料を ICP-AES で分析する際には体毛中に含まれる他の金属と Au が分光干渉を引き起こす可能性が考えられる。そこで、ラット体毛中に多く含まれる金属と Au の混合溶液から Au を選択的に濃縮し、その他の金属を濃縮操作により除去できるかどうかを検討した。シリンジに DEAE カートリッジを結合させ、イオン交換水で数回洗浄した。試料溶液は Au 標準原液及びラット体毛中に比較的多く含まれる金属である Na, K, Ca, Mg, Cu, Fe, Zn, Ba, B, P の標準原液を Britton-Robinson の緩衝液(pH 2.0)で希釈して 10 ppm としたものを 10 mL 調製した。シリンジを通して DEAE カートリッジに試料溶液を導入し、試料溶液中の金属を DEAE カートリッジに吸着させた。次にカートリッジに吸着した金属を 0.5 M 亜硫酸アンモニウム水溶液 5 mL で溶離させた。溶離液を精製水で 25 mL に希釈したものを ICP-AES で測定し、Au (III) 及び他の金属の回収率を算出した。これまでの実験と異なり、本実験では多元素分析を行う必要があり、それに伴って必要な分析試料溶液量も 25 mL に増えている。

検量線作成用標準溶液は多元素分析用として多元素混合溶液とした。この多元素混合標準溶液は元素間の分光干渉及び化学的安定性を考慮して 3 つのグループに分けて調製した。グループ分けの詳細及び各々の元素の測定波長を Table 2 に示す。

**Table 2 Analytical wavelengths for each metal**

Group	Metal	Wavelength (nm)
I	Na	589.594
	Mg	279.551
	Ca	393.364
II	K	766.490
	Fe	259.937
	Cu	324.753
	Zn	202.548
	Ba	455.408
III	B	213.616
	P	249.772

### C. 研究結果

#### 2-1-1) 最適 pH の検討

各々の pH (2.0~12.0) における DEAE カートリッジへの Au の吸着率をグラフにしたものを Fig. 3 に示す。Fig. 3 より、酸性領域において DEAE カートリッジに Au (III) が 100 % 吸着していることがわかる。また、pH 7.0 以上では pH が上昇するのに伴って吸着率が徐々に低下していることがわかる。また、強酸性領域と弱酸性領域を比較すると、強酸性領域の方が多少 pH が変化しても吸着率 100 % を維持できることから、強酸性である pH 2.0 で実験を行っていくことにした。

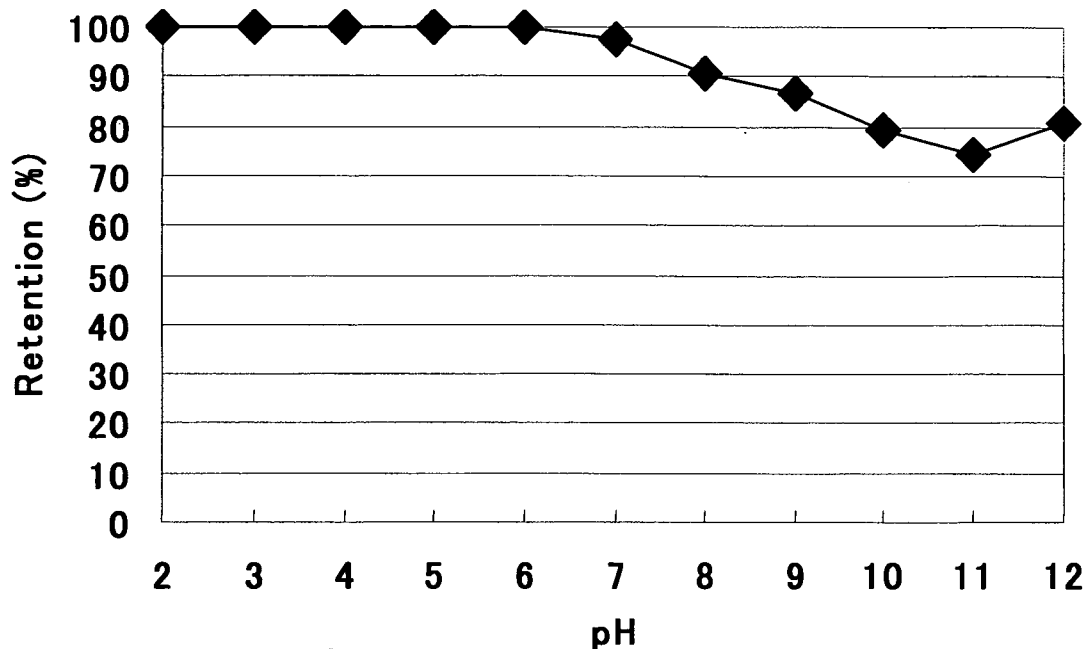


Fig. 3 Effect of pH on retention ratio of Au (III) to DEAE cartridge

2-1-2) 試料溶液量の検討

試料溶液量 10, 20, 30, 40, 50 mL のときの DEAE カートリッジへの Au (III) の吸着率の変化をグラフにしたものを Fig. 4 に示す。Fig. 4 より、試料溶液の量を 10~50 mL に増やしても、DEAE への Au (III) の吸着率はほぼ 100% となり、試料溶液中の金成分はほぼ全てカートリッジに吸着されていることがわかった。試料溶液量が DEAE カートリッジへの Au(III) の吸着率に及ぼす影響はほとんどないと考えられるが、中でも吸着率が最も高かった試料溶液が 10 mL という条件を適用して実験を行うことにした。

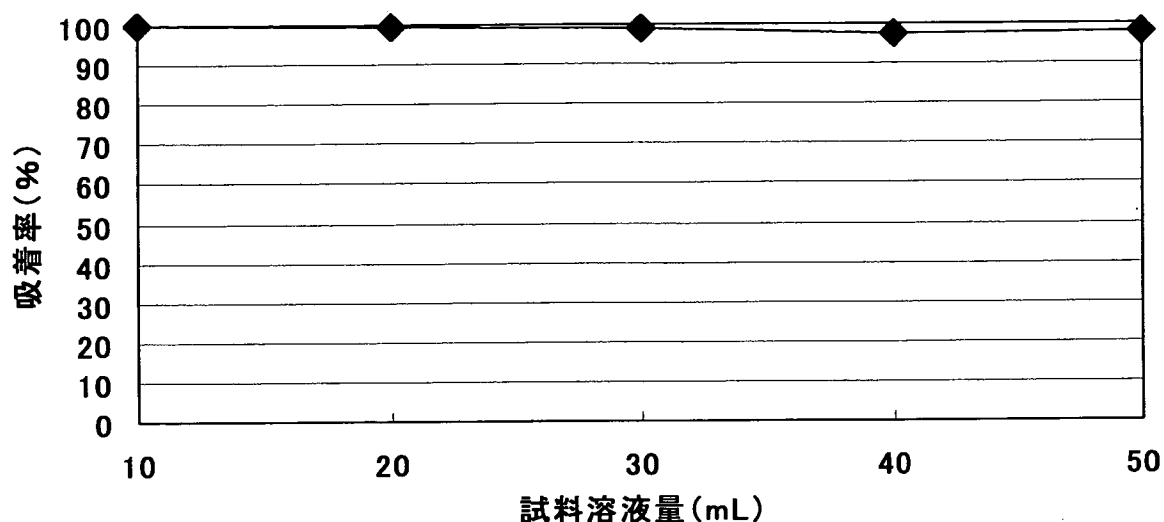


Fig. 4 Retention ratio of Au (III) onto DEAE cartridge when applied varying volume of sample solutions

### 2-1-3) 最適溶離液の検討

得られた Au (III) の回収率を Table 2 に示す。Table 3 より、溶離液が亜硫酸アンモニウム水溶液 (1M および 0.5M)、硫化ナトリウム (1M) のとき、80%以上の回収率を得ることができた。一番回収率の良かったのは 1 M 硫化ナトリウム水溶液を溶離液として用いたときであるが、硫化ナトリウム水溶液は ICP-AES での分析に際して Au と分光干渉を起こしている可能性が考えられたため、次に回収率の良かった 0.5 M 亜硫酸アンモニウム水溶液を溶離液として用いて濃縮倍率の検討を行うことにした。

Table 3 Recovery of Au (III) from DEAE cartridge using various eluents

Eluent	Concentration (M)			
	1	0.5	0.2	0.1
Ammonium sulfite (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>3</sub>	84.4	84.7	63.5	56.3
Sodium sulfide Na <sub>2</sub> S	95.4	77.8	0.8	0.2
Sodium thiosulfate Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	68.9	42.1	23.4	13
Ammonium thiocyanate NH <sub>4</sub> SCN	12.6	10.9	22.4	2.8
Ammonium sulfate (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.07	0	0.03	0.06
Sodium oxide NaOH	46.4	34.9	30.6	30.9
Ammonium acetate CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub>	37.3	21.7	0.74	0.25
Sodium carbonate Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	0.49	0.32	0.36	0.5



Ammonium nitrate	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	0.43	1.14	0.28	0.05
Ammonium chloride	NH <sub>4</sub> Cl	0.03	0	0	0

#### 2-1-4) 濃縮倍率の検討

得られた Au (III) の回収率を Table 4 に示す。さらに、Table 4 の結果より横軸に溶離液量、縦軸に Au (III) の累計回収率をとったグラフを Fig. 5 に示す。Table 4 より、Fraction 2 (累計試料溶液量が 1 mL) のとき、フラクション中の Au (III) の濃度は最大となり、その後は徐々に Au (III) の濃度は減少していることがわかる。また、Fraction 11 以降は Au (III) の濃度はわずかで、ほぼ検出されていないことから溶離液量は Fraction 10 まで (つまり 5 mL) で十分なのではないかと思われる。

Table 4 Recovery of Au (III) from DEAE cartridge

Fraction	溶離液量 (mL)	濃度 (ppm)	回収率 (%)	累計回収率 (%)
1	0.5	1.928	19.28	19.28
2	1	3.735	37.35	56.63
3	1.5	1.952	19.52	76.15
4	2	0.931	9.31	85.46
5	2.5	0.429	4.29	89.75
6	3	0.294	2.94	92.69
7	3.5	0.106	1.06	93.75
8	4	0.044	0.44	94.19
9	4.5	0.022	0.22	94.41
10	5	0.017	0.17	94.58
11	5.5	0.01	0.1	94.68
12	6	0.003	0.03	94.71
13	6.5	0.004	0.04	94.75
14	7	0.001	0.01	94.76
15	7.5	0	0	94.76
16	8	0.006	0.06	94.82
17	8.5	0	0	94.82
18	9	0.001	0.01	94.83
19	9.5	0.038	0.38	95.21
20	10	0	0	95.21

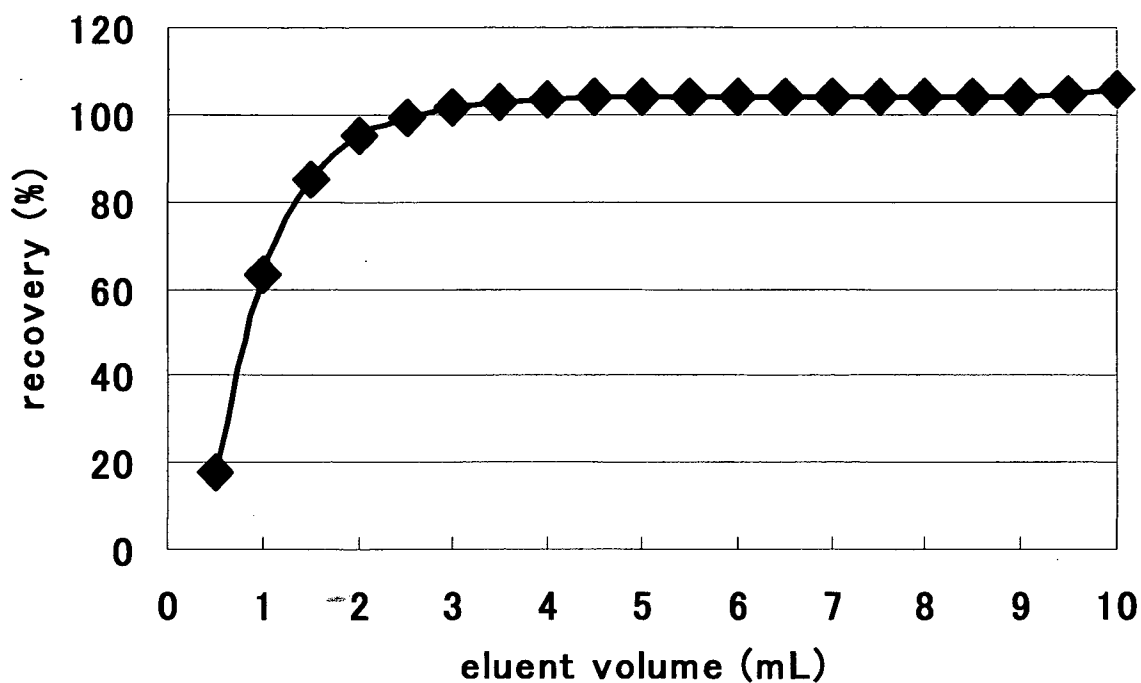


Fig. 5 Recovery of Au (III) from DEAE cartridge

2-1-5) Au (III) の選択濃縮性の検討

各々の元素の濃縮回収率をTable 5に示す。Table 5より、Au (III) に関しては90%の回収率が得られた。更に、その他の金属に関しては最も回収率の高かったKでも2.98%の回収率に留まっており、Au (III) が選択的に濃縮され、濃縮操作によってその他の金属は除去できたということが言える。

Table 5 Recoveries of various metal ions

Metal	Recovery(%)
Au	90.00
K	2.98
Zn	1.68
Ca	1.00
Na	0.75
other metals	ND*

\* Not detected.

## 【考察】

本研究では陰イオン交換樹脂である DEAE が充填されたカートリッジを用いて Au (III) の濃縮条件の検討を行った。本検討により「pH を 2.0 に調整した 10 mL の Au (III) を含む試料溶液を DEAE カートリッジに通し、その後カートリッジに吸着した Au (III) を 0.5 M 亜硫酸アンモニウム水溶液 5 mL で溶離させる」ことにより、およそ 90 % の濃縮回収率が得られることが分った。試料溶液量が 10 mL で溶離液量が 5 mL であるので濃縮倍率としては 2 倍となり、決して大きな数字ではない。ICP-AES では単元素分析でも最低 5 mL の分析試料が必要であるため、これ以上溶離液量を少なくして濃縮倍率を高くすることは困難である。

しかし、本検討の最大の収穫は 2-1-5 節で検討した選択濃縮性にあると考えている。ICP-AES での分析に際して目的元素のピークとその他の金属のピークが重なってしまういわゆる分光干渉は問題となることが多い。しかし、本検討により濃縮操作によって Au 以外の金属元素はほとんど除去できたという事実から分光干渉は回避可能であると考えられる。Au (III) のみで濃縮を行ったときよりもその他の金属を添加して濃縮を行ったときのほうが Au (III) の回収率が若干低下しているが、添加した Au (III) 以外の金属濃度は実際の体毛中の金属濃度よりも数十倍から数百倍濃いので実際の分析においては問題ないと考えられる。また、DEAE カートリッジは操作が非常に簡便であることも長所の一つである。DEAE カートリッジを使用した濃縮では、試料溶液調製から濃縮操作完了まで 30 分程度で終わることが可能である。

## D. 健康危険情報

特になし

## E. 研究発表

1. 論文発表：なし
2. 学会発表：なし

## F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし
3. その他：なし

厚生労働科学研究費補助金  
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)  
分担研究報告書

医薬品を巡る環境の変化に対応した日本薬局方の改正のための研究  
—レーザー回折法による粉体粒度測定に関する基礎的検討(補遺2)—

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U-SP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てきた。多岐にわたるこれらの物性の中で、粒子径と粒度分布は製剤工程の円滑化と製剤(特に経口固形製剤)のバイオアベイラビリティに直接に関係するため、これらの物性をあらかじめ的確に把握しておくことは、製剤開発の原点において必須の要件である。

粒子径測定法については、これまでにふるい分け法と光学顕微鏡法が国際調和に達しており、各薬局方に取り込まれた。これらの測定法に引き続き、現在、EPから提案されているレーザー回折法による粉体粒度測定法が国際調和に向けて3極で審議中(Stage 5A)であるが、日局でもひとまず15局において[参考情報]として収載された。本分担研究者はこれらの審議過程のなかで、平成14年度厚生科学研究補助金(医薬安全総合研究事業)に係わる分担研究報告としてレーザー回折法を取り上げこの原理に基づいて製造された装置8機種を用いて共通試料(沈降炭酸カルシウム)の粒子径分布の測定結果を比較・検討した。また、この過程において抽出した問題点に焦点を当て、平成18年度厚生労働科学研究補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)でその検討を行ったが、これらの実験における試料の分散方法はいずれも湿式であった。

そこで、本研究ではこれら2つの研究に引き続いて、試料の分散法を乾式で行った際における問題点を抽出することを主眼として実施した。

### A. 研究の背景と目的

医薬品原薬や製剤用添加剤の粉体物性(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、薬局方においても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、日局においても検

討の緊要性を要する測定法として、これらの測定法の中で粒度分布測定法<sup>1,2)</sup>、比表面積測定法<sup>3)</sup>及び、かさ密度及びタップ密度測定法<sup>4)</sup>を一般試験法として既に収載したが、これらのうち、前2者は調和に達しており、調和文書に基づく試験法が各局方に取り込まれた<sup>5)</sup>。

ところで、粉体物性のなかで粒子径と粒度分布は、これらの物性が2次物性である流動性や充てん性に著しい影響を及ぼすため、最も基本的で重要な物性として取り扱われている。種々の粒子径測定法のなかで、最近ではレーザー回折法を利用した粒子径測定法が粉