

ている。さらに、インスリンやヒト成長ホルモンのような単純タンパク質であっても、デスアミド体や酸化体、あるいは重合体などさまざまな分子多様性を含んでいることから、最終製品での構造解析を含む特性解析のみで先発医薬品との同等性を判断することが困難である。

また、多くの糖タンパク質医薬品では糖鎖の不均一性が大きく、不均一性の類似性を実証するための技術が未だ十分なレベルに達していないこともあり、試験法の開発が必要とされている。このような糖タンパク質を有効成分とするバイオ後続品の開発においてどのようなアプローチが可能化については大きな課題である。

一方、バイオ医薬品の後発品の開発にあたっては、既承認バイオ医薬品と同一の製法を採用することが現実には困難であることから、用いる細胞基材や製造工程に依存した工程由来不純物については異なる可能性が高い。さらに、不純物の種類によっては測定法上の限界もあり、差異の有無そのものを明らかにすることが困難な可能性がある。また、品質特性の中でも不均一性に関して製法の違いにより大きく異なってくる可能性が高い。

このように世界レベルで開発が進んでいるバイオシミラーに関して、昨年度検討した各国の規制状況、あるいは考え方などの解析結果に基づき、我が国での指針策定に向けた要件を明らかにすることを試みた。さらに、バイオ後続品の規格試験法の設定における局方の役割についても調査研究の対象とした。

C-3-1: バイオ後続品の品質・安全性・有効性確保のための要件

既に、ヨーロッパ医薬品庁 (EMA) で出されているバイオシミラー製品のガイドラインや Health Canada のガイドラインでは、バイオ後続品／バイオシミラーの評価に当たっての基本的考え方はそれほど大きな差異は無い。また、WHO

の作成中のバイオ後続品／バイオシミラーガイドラインも当初の案と比べると EMA や Health Canada ガイドラインに近い内容となってきた。

これらガイドラインあるいはガイドライン案に盛り込まれている基本的考え方を要約すると以下ようになる。先行バイオ医薬品の開発過程で得られる多くのデータは開示されることはないと考えられることから、先行バイオ医薬品の情報の多くはブラックボックスの中にあると考えられる。従って、バイオ後続品の開発にあたっては、恒常性と頑健性を湯有する製法を独自する必要があると考えられる。この独自に確立した製法に基づき製造されるバイオ後続品の候補品については、まずは品質特性を明らかにする必要があるが、これら製法と特性解析のデータは新薬と同等のレベルが要求されると考えられるが、先行バイオ医薬品との比較ではなく独自の試験として実施することになると考えられる。その上で、科学的に可能かつ必要な範囲で、対照とする先行バイオ医薬品との類似性を明らかにすることが求められる。ただし、類似性の確認が困難な場合、あるいは類似しているものの品質特性に差異がみられる場合には、非臨床試験や臨床試験により同等性／同質性を明らかにする必要があるが、上記の事情により、バイオ後続品においては、その規模はケースバイケースながら、ほとんどの製品において非臨床試験および臨床試験が必要とされよう。

以上のような基本原則に基づき、表1にバイオ後続品の我が国における指針に必要な項目をまとめた。この考えに従い作成した指針は資料2の通りである。

C-4: 生薬の試験法及び各条規格の改正に関する研究

2006年4月に施行された第十五改正日本薬局

方における生薬関連分野では、漢方処方エキス6 処方 が新規収載され、2007年10月に施行された 第十五改正日本薬局方第一追補ではさらに2 処方 の漢方処方エキスが収載された。現在、2009 年10月施行予定である第十五改正日本薬局方第 二追補では牛車腎気丸エキス、真武湯エキス及び 八味地黄丸エキスの3 処方が収載予定である。

それら3 処方中のうち牛車腎気丸エキス及び 八味地黄丸エキスでは、構成生薬サンシュユの指 標成分であるロガニンの定量法が設定された。し かし、生薬サンシュユにおいては未だに成分含量 測定法が設定されていない。そこで新規測定法を 検討し、各種市場品65 検体について指標成分で あるロガニンの含量を測定した。同時に数種のカ ラムを使用し、システムの性能並びにシステムの 再現性によるシステム適合性試験を実施した。

一方、生薬ソヨウ(蘇葉)は、第十五改正日 本薬局方にはシソ科(*Labiatae*)のシソ *Perilla frutescens* Britton var. *acuta* Kudo 又はチリメンジ ソ *Perilla frutescens* Britton var. *crispa* Decaisne の 葉および枝先と規定されている。また漢方におけ る配合処方としては香蘇散、柴朴湯、參蘇飲、神 秘湯、半夏厚朴湯、茯苓飲合半夏厚朴湯などがある。薬用に用いるシソは、葉が赤紫色で、ペリル アルデヒド臭が強いものが良品とされているが、 近年中国産のソヨウにペリルアルデヒド臭のし ない粗悪なものが紛れ込んでいる。第十五改正日 本薬局方ではその確認試験法に無水酢酸と硫酸 を用いたテルペン類の呈色反応を採用している が、本確認試験法のみでは粗悪な生薬の流入を防 ぐことができない。そこで新たな規格設定の必要 性に対応すべく、薄層クロマトグラフィー法を用 いた確認試験法並びに高速液体クロマトグラフ ィー法を用いた成分含量測定法の検討を行った。

C-4-1: サンシュユの成分含量測定法に関する検討

川原の分担研究報告書に記された方法によつ

て測定した、2001年から2008年にかけて韓国及び 中国で収集した市場品サンシュユ65検体の乾燥 物換算したロガニン含量を測定した。65検体の市 場品のサンシュユにはロガニンが0.36%~0.97% 含有していることが明らかとなった。また、ロガ ニン標準品及び代表的な市場品サンシュユの定 量に用いたHPLC法のシステム適合性試験におけ る分離度は7.2~13.0であり、相対標準偏差は0.08 ~0.67%であった。

C-4-2: ソヨウの確認試験に関する検討

TLCを用いた各種条件検討の結果、ペリルア ルデヒドはヘキサン抽出後にヘキサン/酢酸エ チル混液で展開後、254 nm照射下でかるうじて 確認は可能であった。試料によっては検出困難で 展開後の風乾の具合にも多少左右される。また、 希硫酸噴霧後加熱してもあまり明確には発色せ ず、他の検出試薬の検討も必要と考えられた。ま た、精油含量試験に用いた試料をそのまま用いる か、あるいは誘導化等の検討も必要と考えられた。 一方、ロスマリン酸は365 nmで検出すると明確 に確認できることが明らかとなった。

C-4-3: ソヨウの成分含量測定法に関する検討

HPLCによる各種条件検討の結果、ペリルアル デヒド及びロスマリン酸どちらの化合物におい てもHPLCにて検出は容易であり、ピークは分離 することが明らかとなった。

C-4-4: ペリルアルデヒドの安定性に関する検討

ペリルアルデヒドの安定性に関して検討を行 った結果、メタノール中ではアルデヒド基がジメ トキシ体に変化していることが予想された。そこ でメタノール中及びアセトニトリル中のペリル アルデヒドの安定性を確認するため、それぞれの UVにおける吸光度の経時変化を検討、続いて重 水素化メタノール中での変化についてNMRを用 いて検討した。一方、HPLCによる検討では、ペ

リルアルデヒドはメタノール中で最も不安定であり、その安定性は温度依存的であることが明らかとなった。またソヨウの試料溶液中におけるペリルアルデヒドは非遮光、室温の条件下では減少率が大きくなることも確認された。

C-4-5: 一部中国産ソヨウのペリルアルデヒド含量と(E)-アサロンの含有結果を受けての HPLC の条件変更について

上記ソヨウにおけるペリルアルデヒド成分含量測定法の方法を使用し、さらに市場品の含量を調べたところ、一部の中国産にペリルアルデヒド臭が全くしない試料において、本分析条件にて検討した結果、高いペリルアルデヒド含量を示すという矛盾した結果を示した。そこでフォトダイオードアレイ(PDA)を用いた分析を行ったところ、ペリルアルデヒドと同じ保持時間上にペリルアルデヒドと全く異なる紫外線吸収スペクトルを示す化合物が重なっていることが明らかとなった。そこで再度条件を検討し、移動相の溶媒比率を 35%アセトニトリル/水混液とすることで両者が分離することが確認された。また、一部中国産ソヨウで認められた重複ピークは GC/MS 及び、単離後の NMR 解析により、(E)-アサロンであると決定した。

C-5: 医薬品添加剤の各条規格の改正に関する研究

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。

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 をその各条に取り入れようとする作業を開始していることから、昨年度の研究において、主に EP 委員会と添加剤メーカー団体（国際添加剤協会、IPEC）から発信された情報をもとに FRC をめぐる問題について評価を行い、問題点の解析を行った。

先に FRC に関して発信されてきた情報は概念的なものが多かったが、2008 年に発行された EP6.0 において、結晶セルロースなどの添加剤各条に FRC のセクションが取り込まれ、今までの EP の FRC に対する考え方が具体的な形として提示されることとなった。また、USP は Pharmacopeial Forum に General Information Chapter として「Excipient Performance <1059>」を提案した。このような状況のもと、本年度の研究として、FRC に対する EP、USP の対応を比較検討することにより、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。

C-5-1: 添加剤の FRC とは

FRC の概念や重要性については前年度の吉岡の研究報告に詳細に述べられているので、ここでは簡単に説明したい。添加剤はほとんどの医薬品製剤に使われ、優れた製剤 performance を実現するために不可欠なものである。効率的な製剤の開発や変動の少ない製造工程の実現、そして優れた製剤の performance を得るためには添加剤の物理的特性や化学的特性に負うところが大きく、一定の品質の医薬品製剤を製造するためには性質のよくわかった添加剤を使用することが不可欠である。添加剤はさまざまな機能を実現するために使われ（たとえば賦形剤、結合剤、滑沢剤など）、

使用目的や製造工程および製剤 performance に依存して必要とされる特性が機能性関連物性 (functionality related characteristics, FRC) である。その例として粒子径、粒度分布、表面積などがある。

添加剤は薬理作用を持たないが、有効成分と多様に相互作用し、インピトロおよびインピボにおける製剤 performance に影響する。有効成分、添加剤および製造工程、それらの変動ならびにそれらの相互作用を適切に理解することが一定の performance を有する製剤の製造には不可欠であり、理解の不足は、製剤化の断念、不必要なほど多様な製剤の試作、製剤 performance (安定性、溶解性、溶出プロファイル) の悪化を引き起こす。添加剤の FRC を試験することは、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を理解するための有用な手段であるということが、これまでの経験からわかってきている。

C-5-2: EP における FRC の取り扱い

FRC に対する取り組みをいち早く始めた EP では、2008 年発行の EP6.0 において結晶セルロース、粉末セルロース、ヒプロメロース、ヒプロメロースフタレート、メチルセルロースなどの各条に FRC のセクションを追加した。これらの添加剤は最終製剤の製造性や製剤の performance に影響を与えると考えられる物理的特性をもつ添加剤である。確認、純度、含量についての規格に加え、FRC のセクションにそれらの物理的特性が記載されている。例えばヒプロメロースはメチル基とヒドロキシプロキシ基を有するセルロース誘導体であり、置換度の異なる 4 つタイプがある。国際調和の際に、4 つの各条をファミリーモノグラフとして 1 つの各条にまとめられたが、タイプによって添加剤の機能が異なるため、結合剤、増粘剤、フィルム剤として使用されるヒプロメロースの FRC としては「見かけ粘度」、「置換度」が記されており、徐放性製剤のマトリックスとし

て使われるヒプロメロースの FRC としては「見かけ粘度」、「置換度」に加え、「分子量分布」、「粒子径分布」、「粉体の流動性」が記されている。EP の general chapter に試験法が既にあるものは項目だけが記され、general chapter に収載されていない場合は「見かけ粘度」のように各条の FRC セクションに試験法が記載されることになる。このセクションは non-mandatory であり、試験実施は必須ではないと記されているが、これらの特性を制御することにより、製造工程におけるばらつきを減らし、製剤 performance を改善できるとしている。

各条への FRC の記載の他に、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 の概念を知らせ、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。その中で、FRC section は判定基準ではなく、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提供されると明記されている。とはいえ FRC は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 ではあるが、これらの試験の実施を推奨している。

C-5-3: USP における FRC の取り扱い

USP が文書の形で発信した FRC に関する見解は、2007 年末に発行された Pharmacopeial Forum Vol. 33 (6) (2007) においてなされた「Excipient Performance <1059>」の提案が最新のものと思われる。USP は FRC を各条に記載するのではなく、General chapter を検討していると考えられる。USP-NF において、添加剤は「錠剤/カプセルの賦形剤」「錠剤/カプセルの結合剤」のように機能別に 40 のカテゴリーに分類され、その機能を有する品目がリストされている。「Excipient Performance <1059>」の案はこのリストをもとに、

添加剤機能ごとに、添加剤のリスト、添加剤機能の定義、添加剤が機能を発現するメカニズム、機能に関連する物理的特性に関する説明がなされ、最後に、一定の添加剤機能を保証するために必要な規格及び試験法の設定に有用と考えられる一般試験法が記載されている。14 のカテゴリーについて例示されており、残りのカテゴリーについても引き続き改訂作業が続けられている。Pharmacopeial Forum の改定案は意見聴取を目的としており、改訂作業を活性化するためのものである。従って、最終的に Fix されたものではないが、USP の方針は FRC を General chapter に記載すると考えて良いと思われる。

C-6：理化学試験法の改正に関する研究

昨年度、高周波誘導結合プラズマ発光分光法（ICP-AES、Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry）における試料の濃縮法としては、「pHを2.0とした試料溶液10 mLを陰イオン交換樹脂であるDEAEを充填したカートリッジ（DEAEカートリッジ）に通して試料溶液中のAuをDEAEカートリッジに吸着させ、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5 mLで溶離させる」方法が最適であることが分かった。本濃縮法を無機金属標準溶液に適用した場合、90 %ものAuの濃縮回収率が得られた。本年度は、ラットの体毛を溶液化した試料に前年度開発したDEAEカートリッジを用いる濃縮法を適用し、標準溶液で得られた検討内容が実際の生体試料においても適用できるかどうか検討した。

C-6-1：ラット体毛溶液化試料の濃縮操作

シリンジに DEAE カートリッジ（TOYOPAK DEAE,東ソー）を結合させ、イオン交換水で数回洗浄した。試料溶液はラットの体毛を溶液化し、pH 2.0 の Britton-Robinson の緩衝液で 10 mL に希釈したものを調製した。使用したラットの体毛は

40 mg/kg の金チオリンゴ酸ナトリウムを投与してから 5 週間後に採取したものであり、本章における諸検討において全て共通である。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 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。溶離液を ICP-AES で測定し、Au の濃縮回収率を算出した。測定は 3 回行ったが、溶出液中に Au が検出されず、濃縮ができていないことが分かった。

C-6-2：ラット体毛溶液化試料の濃縮（Au（III）の添加）

ラット体毛溶液化試料中の Au が陰イオン交換樹脂である DEAE カートリッジに結合するためには $[AuCl_4]^-$ となり錯イオンを形成することが必要であるが、錯イオンを形成するのに必要な塩化物イオンがラット体毛中にほとんど存在しないことが考えられた。そこで、塩化物イオンを少量添加し、ラット体毛中の Au を $[AuCl_4]^-$ に変換してから DEAE カートリッジに通し、濃縮を試みた。まずシリンジに DEAE カートリッジ（TOYOPAK DEAE,東ソー）を結合させ、イオン交換水で数回洗浄した。ラットの体毛は溶液化後、1 ppm の塩化アンモニウム水溶液 1 mL 及び 1000 ppm の Au 標準原液 10 μ L を添加し、pH 2.0 の Britton-Robinson の緩衝液で 10 mL に希釈し、試料溶液とした。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 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 5 mL で溶離させた。溶離液を ICP-AES で定量分析し、Au の濃縮回収率を算出した。その結果、多少改善されているものの、依然として濃縮回収率は 20 %前後と低い値に留まっており、塩化物イオンの添加はある程度の効果を示したが、それだけではラット体毛中の Au が DEAE カートリッジより回収できていないことが分かった。

た

C-6-3: ラット体毛溶液化試料の濃縮 (Au (III) の添加)

溶液化後の試料溶液に少量の既知濃度の Au (III) を添加してから濃縮を行い、C-6-2 までの結果が改善されるかどうかを検討した。添加した Au (III) は検量線作成用の標準溶液とし、添加濃度は 1 ppm とした。濃縮操作は以下のように行った。シリンジに DEAE カートリッジ (TOYOPAK DEAE, 東ソー) を結合させ、イオン交換水で数回洗浄した。ラットの体毛は溶液化後、1 ppm の塩化アンモニウム水溶液 1 mL 及び 1000 ppm の Au 標準原液 10 µL を添加し、pH 2.0 の Britton-Robinson の緩衝液で 10 mL に希釈し、試料溶液とした。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 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 5 mL で溶離させた。

溶離液を ICP-AES で定量分析し、Au の濃縮回収率を算出したところ、もともと体毛中に存在していた Au が DEAE カートリッジによる濃縮法を適用することにより、ほぼ全て回収できていることがわかった。少量の Au (III) の添加は DEAE カートリッジによる濃縮にとって大変有効だと言える。

C-7: 物性試験法の改正に関する研究

経口投与製剤については、水分測定は製剤の化学的、物理的、微生物学的特性を制御するために行われる。したがって、粉体の吸湿性は原薬や添加剤の安定性及び製剤工程での取扱い性、さらには製剤特性にまで広範囲にわたって影響する重要な物性である、これまでも統一した吸湿性試験法の確立を目指した一連の研究において、“本品は吸湿性である”との表示のための測定条件と評価基準の設定がなされているが、これらが

日局一般試験法として収載されるまでには至っていない。一方、最近国内でも水分吸着等温線の解析研究がなされ始め、吸湿性の重要性に対する認識が急速に深まっている。さらに今回、EP により新たに水分活性という物性値の検討が提案された。本物性値は欧州では輸入食肉製品に関して既に 30 年以上前から水分活性の重要性が認識され、FDA や USDA にも取り入れられている。また、水分活性は現在の HACCP で要求される重要なパラメータの一つとなっている。さらに日本でも食品衛生法 (平成 5 年) により一部の食品の流通・保管に水分活性値の基準が設定されている。このような現状を踏まえて、国内の製薬メーカーにおいても測定機器が既に相当数購入されていることが推測されている。

そこで本研究では、代表的な 14 種類の添加剤を対象としてこれら 2 種類の物性 (値) を測定し、その有用性について検討するとともに、日局で [参考情報] として取り込む際の参考資料として供することを目的とした。

C-7-1: 水分吸着量

上限相対湿度を 0 から 35、55、75、95%RH まで変化させた場合の種々の添加剤の水分吸着等温線を求めた。乳糖の場合、この測定範囲内では、水分吸着量の有意な増加は認められなかった。これに対して、他の添加剤は、上限相対湿度が増加するにつれて水分吸着量が大きくなったが、上限相対湿度が 35%、55%、75%RH では、PVP の水分吸着量をもっとも大きく、次いで、クロスカルメロースナトリウム、CMC、CMC-Ca、L-HPC の順に大きい値を示した。これに対して上限湿度が 95%RH の場合は、D-ソルビトールの水分吸着量が 70%RH から急激に増加し、95%RH ではもっとも高い値を示し、潮解した。しかし、PVP とクロスカルメロースナトリウムも同様に高い値を示したが、潮解は起こらなかった。

次に上限相対湿度を 75%RH に設定し、各種

添加剤の吸脱着等温線を求めた。乳糖以外の添加剤の中で、L-HPC (i) 以外は、Brunauer-Emmett-Teller (BET)の分類によるII型に近い吸着等温線を示したが、L-HPCはIII型に近かった。一方、脱着等温線は、HPCやL-HPC、結晶セルロースでは、吸着等温線とほぼ同じ過程を示したが、CMCやCMC-Ca、クロスカルメロースナトリウム、PVP、D-ソルビトール、ゼラチン2509P、ゼラチン2510Pにおいては、吸着と同じ過程を経ずヒステリシスを示した。この結果から、吸着した水分が脱離しにくい添加剤があることが明らかとなった。すなわち、一般に賦形剤として用いられる乳糖類及び結晶セルロースは吸湿性に乏しいが、崩壊剤であるカルメロース(d)、カルメロースカルシウム(e)、クロスカルメロースナトリウム(f)、L-HPC(i)はいずれも吸湿性が高いのに加えて、脱着曲線も吸着曲線より大幅に上回り、顕著なヒステリシスを示した。このような現象は、これらの崩壊剤は一度吸湿すると水分を脱離しにくい特性があることから、水中における膨潤性に富むことを示唆するとともに、崩壊剤としての機能が吸湿によって影響を受ける可能性があることも示唆している。これらのことから、吸脱着等温線から「吸湿性」を評価する際には、単に吸着過程のみを解析するのではなく、脱着過程も併せて解析する必要があると考えられる。

C-7-2: 水分活性

水分活性に関する文献によれば、水分活性の方がカール・フィッシャー(KF)法よりしばしば化学的、物理的又は微生物学的変化と相関性が高いとされている。また水分活性測定法は非破壊的であるほか、測定が煩雑ではなく、装置も一般に安価で、再現性と精度が極めて高いという利点を有している。このような場合、水分活性試験はKF法の代替法となり得る。ここで、物質の特性に関係する水分量のうち、含水率は結合水を含む試料中のあらゆる形態の水分量

であるのに対して、水分活性は試料が示す平衡湿度を示しており、密閉容器中の試料上の空間と試料表面における自由水分の間に平衡が達成された時の空間の相対湿度の1/100(=試料が示す平衡水蒸気分圧/純水が示す平衡水蒸気分圧)で表される。したがって、異なる物質が同一の含水率をもつことはあるが、水分活性も等しいとは限らない。

33%RHで保存した場合の水分活性を求めたところ、乳糖100Mが最も高い値を示し、乳糖DCL21が最も低い値を示した。また、上限湿度35%RHで最も高い水分吸着量を示したPVPは、水分吸着量が大きかった他の添加剤に比べて逆に小さくなった。これは、一旦吸湿した水分は粒子内部に保持されて容易に脱離しにくいことを強く示唆している。

55%で保存した場合、水分吸着量が極めて低い乳糖は、いずれのタイプでも他の添加剤よりも小さい値となった。PVPは、この条件の場合でもそれほど大きい値を示さなかった。75%RHで保存した場合も乳糖の値は小さかったが、この条件ではD-ソルビトールの値が最も大きくなった。95%RHで保存した場合は、乳糖を除くと最も水分吸着量が高かったD-ソルビトールの値が最も小さくなったが、これは、潮解が起こったためと考えられた。また、HPCは、95%RH以外ではL-HPCより水分活性は大きくなったが、この湿度ではL-HPCより小さくなった。

以上のように、水分活性は、保存湿度によって変化することが判明した。水分活性で表すことができる自由水は、保存環境の温度及び湿度の変化で容易に移動や蒸発が起こる水で、医薬品の安定性に重要な影響を及ぼすと考えられる。また、測定結果から、乳糖以外の添加剤では95%RHのような極端に高温条件下で保存した場合、カビが生育する0.80以上の値を示したことから、造粒後の乾燥条件や保存容器など

の選択に注意が必要であると思われた。

C-7-3: 水分吸着量と水分活性の関係

種々の添加剤について、4水準の相対湿度で保存した場合の水分活性値とその相対湿度を上限湿度として測定した場合の吸着水分量の関係を求めたところ、いずれの相対湿度においても両者の間には相関性が認められなかった。このことから、水分吸着量が増加しても水分活性が大きくなるとは限らないことが示唆された。特に吸着水分量が低いにも関わらず高い水分活性値を示す添加剤については、水分によって分解する医薬品の安定性に影響を及ぼすことが予測されることから、添加剤の選択は十分に注意する必要があると考えられた。

C-7-4: 乳糖の水分吸着等温線と水分活性の関係

乳糖 100M 及び乳糖 200M は、1水和物結晶で、前者は分級品で、後者は粉砕品である。一方、乳糖 DCL-21 は、水分含量が非常に低い無水乳糖で、粒子は微粒子からなり、主にβ乳糖により構成されていて、打錠時に破壊されやすい性質をもち、高い成形性を示す。これら3種類の乳糖の保存前の粉末 X 線回折プロファイルから、乳糖 100M 及び 200M は1水和物の特徴的なプロファイルを示した。これに対して乳糖 DCL-21 は、乳糖 100M 及び 200M とは異なる回折パターンを示した。これらを 95%RH で2週間保存した場合の X 線回折プロファイルは、1水和物である 100M 及び 200M の場合、新しいピークは認められず、ピーク強度の増加が認められ、結晶性が高くなることが明らかとなった。一方、DCL-21 の場合、100M や 200M と同じ回折角にピークが認められたことから、一部1水和物に転移していることが考えられた。これらの水分吸着量は、75%RH まで上昇してもほとんど増加しなかったが、95%RH まで上昇

すると、100M と 200M では、吸着水分量は、それぞれ 0.18% と 0.21% となったが、DCL-21 の場合 0.94% となり、100M と 200M より大きくなった。これは、粉末 X 線回折プロファイルの結果から、一部、1水和物に転移したためであると考えられる。

3種類の乳糖の水分活性値は、保存湿度や種類によって変化した。即ち、1水和物の 100M と 200M では、100M の方が大きい値を示したが、これは、200M の製品ではかなり小さい粒子径の粒子が混在しているため、水分活性値が大きくなったためと考えられた。DCL-21 の水分活性値は、低湿度側 (53, 75%RH) では 100M と 200M より大きな値を示したが、95%RH では 100M とほぼ同じ値を示した。このように 100M や 200M と異なる挙動を示したのは、保存過程で1水和物への転移が起こるためであると考えられる。

C-8: 製剤試験法の改正に関する研究

溶出試験は、経口固形製剤の評価手法としてその重要性を増しており、著しい生物学的非同等性を防ぐための試験としても重要な役割を果たしている。溶出試験を医薬品の有効性確保や医薬品開発の指標とするには、適切な試験法の確立が極めて重要である。一方、製剤の製造や品質評価試験を外部委託するケースが多くなっている現在、溶出試験の結果に影響を及ぼす要因の把握、適切な試験装置のバリデーションは品質管理上不可欠となっている。そこで、今年度は溶出試験のペッセルの形状に関する2つの検討を行った。

(1) 製剤試験法の国際調和でも、溶出試験法の校正の問題が取り上げられ、機械的校正手法の確立が望まれている。昨年度報告したように、FDA は溶出試験器の機械的校正のガイドライン案を示している。一方、2003年頃から、我が国の理化学試験用ガラス機器の専門メーカーがペッセルの製造に着手し、高精度のゆがみの少ないペッセルの供給を開始し、2005年に溶出試験法の専門雑誌にゆがみの程度がプレドニゾン標準

錠の溶出性に影響を及ぼすことを報告して以来、ベッセルの形状に関する関心が高まった。しかし、ベッセルの形状は、内面だけでなく、装置に設置するためのリム部分の形状等も異なるため、ベッセルを交換した場合の影響が、使用する溶出試験器にうまくフィットするものであるかどうか依存することも考えられる。機械的校正により、基本的な装置の設置状況はバリデーション可能と思われるが、ベッセル形状については、今のところ手つかずの状況にある。これはベッセル形状の評価に用いられる高精度三次元測定装置が高価で、測定費用が高いことにも依存している。

昨年度の本研究では、従来から USP が頒布してきた稼働性能確認試験 (Performance Verification Test) のための標準錠は、その設定された規格幅が広いために装置の的確性を把握するには実効性が疑わしいことを示した。ただし、その溶出試験結果を独自に管理し、変動を把握するならば、それなりの意味を有することを示唆した。現在、我が国では、各機器メーカーは独自に機械的校正の規格を設定し、溶出試験器の校正にあたっては、機械的な校正の後に、USP ブレドニゾン標準錠による校正を実施している場合が多い。

そこで、ブレドニゾン標準錠 Lot.P を用い、使用する溶出試験器、脱気法を一定として、ベッセル形状の影響がどの程度認められるかについて検討した。

(2) 溶出試験の問題の一つにマウントと呼ばれる現象がある。パドル法による溶出試験では、製剤がベッセルの底で崩壊した後、パドルの回転により試験液中で攪拌されて、薬物が溶出する。しかし、製剤によっては、崩壊の後、パドル軸の真下のベッセル底に堆積して動かなくなる。この堆積物の固まりがマウントである。マウント状態では攪拌の影響を受けにくくなるため、溶出挙動がばらついて、適切な試験結果を得られない可能性がある。また、マウント状態では崩壊後の製剤が試験液中で攪拌されないため、マウント形成しない製剤に比べて、物理的負荷が小さくなる。このため、マウントしている製剤としていない製剤では、同等の物理的負荷条件での溶出試験の比較が困難となる。従って製剤の溶出挙動を適切に評価するには、

マウントを防ぐ必要がある。

マウントを防ぐ方法の一つとして、ピークベッセルが提案されている。ピークベッセルは、底の中央が内側に盛り上がった形状 (以下、ピークという) のため、製剤崩壊後にベッセルの底に堆積しにくく、マウント防止効果が期待できる。しかし、ピークベッセルのマウント防止効果の評価や、他のベッセルとの比較研究はみあたらない。

本研究では、ピークベッセルの評価を目的として、そのマウント防止効果を検証した。また、ピークベッセルと通常使っているベッセルの溶出挙動をさまざまな条件で比較し、ピークベッセルの活用について考察を行なった。

C-8-1-1: 各ベッセルの形状の測定結果

ベッセル A、B 及び C の三次元測定機による形状の測定値である、真球度、同心度、真円度、円筒度を 6 ベッセルの平均値として Fig.1 に示した。同心度は対象としている平面内の円が円筒軸を中心とした直径の円の中にあること、真円度は円形形体の幾何学的に正しい円からのひらきの差、真球度は、円心度を空間要素に拡張したもの、円筒度は円筒形体の幾何学的に正しい円筒からのひらきの差を意味している。ベッセル A は 15 年以上以前に購入し、10 年以上使用したもので、もっともゆがみは大きい。その理想形状からのずれの程度を Fig.2 に Fig.示した。ベッセル B はその後改良されたベッセルであり、ベッセル C はもっとも高精度のベッセルとされているものである。それぞれの理想形状からのずれも Fig.2 にいっしょに示した。ベッセル C がもっともずれが少ない傾向が見られた。

C-8-1-2: ブレドニゾン標準錠 (Lot. P) の溶出性に及ぼすベッセルの影響

蒸留水を脱気後、5 種類のベッセルを用いてブレドニゾン標準錠 (Lot. P) の溶出試験を実施した。試験結果を、6 ベッセルの試験の平均値と標

準偏差として Table 1 及び Fig.3 に示した。今回の溶出試験では、いずれのベッセルを使用しても、適切にバリデートされた溶出試験器を用いている限り、標準錠の溶出性に差は認められないことが示された。この 5 種類のベッセルには、ベッセルの形状が問題視される以前に作製されたベッセル A も含んでいることから、少なくとも我が国で発売されてきているベッセルに関しては、ベッセルの形状の差は、標準錠の溶出性に差を生じさせる要因とはならないことを示唆している。

C-8-1-3: 国産の 3 種類の溶出試験器による、プレドニゾン標準錠の溶出性

我が国で発売されている 3 種類の溶出試験器を用いて、標準錠の溶出試験を実施し、結果を Fig.4 に示した。ここで使用したベッセルは、ベッセル B やベッセル C と同等なものであった。医薬品の試験が外部委託されることも増え、試験器によらず測定結果の差が取りざたされる事例も散見されるようになってきているが、少なくとも適切にバリデーションとされた試験器を用いる限り、プレドニゾン標準錠の試験結果に大きな差は認められなかった。

C-8-2-1: ピークベッセルのマウント防止効果

JP ベッセルおよびピークベッセルを用いて、プレドニゾン標準錠の溶出試験を行い、それぞれの条件でのマウント形成の有無と製剤の状態を目視で確認した。

その結果、JP ベッセルでは、プレドニゾン標準錠の崩壊後、堆積物がベッセルの底でマウントを形成した。試験液は澄明で、試験開始 30 分後でも、マウントは残っていた。一方、ピークベッセルでは、製剤崩壊の後、ベッセルの底のピーク表面にわずかに堆積物があるのみで、マウント形成を認めなかった。

C-8-2-2: JP ベッセルとピークベッセルの比較

JP ベッセルおよびピークベッセルを用いて製剤 a および b の溶出試験を行った。その結果、製剤 a は JP ベッセルおよびピークベッセルのどちらの試験条件でもマウント形成は認めず、15 分以内にほぼ 100% の溶出率に達した。一方、製剤 b はピークベッセルではマウントを形成せず、15 分以内にほぼ 100% の溶出率に達して、製剤 a とほぼ同じ溶出挙動を示したが、JP ベッセルではマウントを形成し、180 分後でも溶出率は 100% に達しなかった。

C-8-2-3: パドル回転数とピークベッセルの比較

プレドニゾン標準錠とガスター錠 20 mg を用いて、ピークベッセルでの毎分 50 回転の溶出試験と、JP ベッセルでの毎分 50、75 および 100 回転での溶出試験を行い、それぞれの溶出率を比較した。

その結果、プレドニゾン標準錠は、JP ベッセルの毎分 50 回転の条件ではマウントが見られ、30 分後の溶出率は 50% 程度であった。ピークベッセルの毎分 50 回転、JP ベッセルの毎分 75 および 100 回転ではマウントは見られず、30 分後の溶出率は 90% 以上であった。ピークベッセルでの毎分 50 回転の溶出挙動は、JP ベッセルの毎分 100 回転とほぼ同じであった。

ガスター錠 20 mg は、JP ベッセルの毎分 50 回転の条件ではマウントが見られ、30 分後の溶出率は 65% 程度であった。ピークベッセルの毎分 50 回転、JP ベッセルの毎分 75 および 100 回転ではマウントを形成せず、60 分後の溶出率はほぼ 100% であった。ピークベッセルでの毎分 50 回転の溶出挙動は、JP ベッセルの毎分 100 回転とほぼ同じであった。

C-9: 医薬品の名称、化学名及び構造式の改正に関する研究

JP (日本薬局方) には我が国で使用されている

主要な医薬品が収載され、法律すなわち規格書としての役割を果たしている。加えて JP は、我が国の医薬品の規範書としての役割も負っている。JP 収載医薬品の医薬品各条の記載は、医薬品の情報記載の規範を示しており、波及効果は大きい。このような観点から、JP の記載内容は、

- 1) 科学的に正しいこと、
 - 2) 整合性があること、
 - 3) 国際的に調和していること、
 - 4) 情報の電子化に対応していること、
- などが必要要件となる。

本研究では、JP に収載されている医薬品を中心に我が国で承認されている医薬品の名称(日本名、英名、別名)、構造式、分子式、分子量、化学名、CAS 番号、および、基原の項に含まれる構造情報など、医薬品の本質を規定する項目(以上を、名称関連事項と略す)について、先に示した観点から記載内容を精査し、名称関連項目の整備を目的とした調査研究を行っている。

JP に収載されている医薬品のうち生物薬品については、JP に収載されている生物薬品の数が少ないことに加えて、本質(構造)として記載すべき内容が化学薬品より多岐にわたることや、糖タンパク質などではその構造が多様であるなどの理由により整備が遅れている。加えて、近年、バイオテクノロジーの進歩により一層多くの生物薬品が開発されるようになり、医薬品名称専門協議(JAN 協議)で承認される生物薬品の数も増えてきている。

このような状況下、今年度は、JP に既収載の生物薬品および近々収載が予定されている生物薬品を対象に、医薬品の本質(構造)にかかわる記載内容について調査研究を実施し、今後整備が必要となる事項を明らかにした。

C-9-1: JP15 に収載されている生物薬品

JP15 に収載されている生物薬品を INN のシステムに従って分類し以下に列記する。

・ 酵素類を示すステム「-ase」を持つ医薬品
ウロキナーゼ

Urokinase

β-ガラクトシダーゼ(アスペルギルス)

β-Galactosidase (Aspergillus)

β-ガラクトシダーゼ(ペニシリウム)

β-Galactosidase (Penicillium)

カリジノゲナーゼ

Kallidinogenase

ジアスターゼ

Diastase

ジアスターゼ・重曹酸

Diastase and Sodium Bicarbonate Powder

複方ジアスターゼ・重曹酸

Compound Diastase and Sodium Bicarbonate

Powder

セラペプターゼ

Serrapeptase

・ 性腺刺激ホルモン類を示すステム「(-)gonadotropin」を持つ医薬品

血清性性腺刺激ホルモン

Serum Gonadotropin

注射用血清性性腺刺激ホルモン

Serum Gonadotropin for Injection

ヒト下垂体性性腺刺激ホルモン

Human Menopausal Gonadotropin

ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン

Human Chorionic Gonadotropin

注射用ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン

Human Chorionic Gonadotropin for Injection

・ インスリン類を示すステム「Insulin」を持つ医薬品

インスリン

Insulin

インスリン注射液

Insulin Injection

インスリン亜鉛水性懸濁注射液

Insulin Zinc Injection (Aqueous Suspension)

結晶性インスリン亜鉛水性懸濁注射液

Crystalline Insulin Zinc Injection (Aqueous Suspension)

無晶性インスリン亜鉛水性懸濁注射液

Amorphous Insulin Zinc Injection (Aqueous Suspension)

イソフェンインスリン水性懸濁注射液

Isophane Insulin Injection (Aqueous Suspension)

ヒトインスリン (遺伝子組換え)

Insulin Human (Genetical Recombination)

・インターロイキン類を示すシステム「-kin」を持つ医薬品

セルモロイキン (遺伝子組換え)

Celmo leukin (Genetical Recombination)

テセロイキン (遺伝子組換え)

Teceleukin (Genetical Recombination)

注射用テセロイキン (遺伝子組換え)

Teceleukin for Injection (Genetical Recombination)

・ヘパリン及び低分子量ヘパリン類を示すシステム「-parin」を持つ医薬品

ヘパリンナトリウム

Heparin Sodium

ヘパリンナトリウム注射液

Heparin Sodium Injection

ヘパリンカルシウム (JP15 第2 追補収載予定)

Heparin Calcium

パルナパリンナトリウム

Parnaparin Sodium

・血管収縮薬及びバソプレシン誘導体を示すシステム「-pressin」を持つ医薬品

バソプレシン注射液

Vasopressin Injection

・下垂体ホルモン放出促進ペプチド類を示す

「-relin」を持つ医薬品

ゴナドレリン酢酸塩

Gonadorelin Acetate

プロチレリン

Protirelin

プロチレリン酒石酸水和物

Protirelin Tartarate Hydrate

・オキシトシン誘導体を示すシステム「-tocin」を持つ医薬品

オキシトシン

Oxitocin

オキシトシン注射液

Oxitocin Injection

なお、生物薬品には、INN のシステムにない方法で命名されている生物薬品もある。JP15 には、インフルエンザ HA ワクチン等のワクチン類、ガスエソウマ抗毒素などの抗毒素類、リゾチーム、ヨウ化人血清アルブミン (^{131}I) 注射液、乾燥甲状腺、乾燥酵母、ヒト免疫グロブリン、カルシトニン(サケ) (JP15 第2 追補収載予定)、などが収載されているが、これらについては今回の調査研究の対象外とした。

C-9-2: 生物薬品類の本質 (構造) を規定するための記載事項

前にも述べたように、医薬品の本質は、構造式、分子式、分子量、化学名、CAS 番号などで定義される。生物薬品においても基本的な考え方は同じであり、本質は構造で規定することが望ましい。ペプチドあるいはタンパク質構造のみで構成

される生物薬品では、構造式が単一で明確になっている場合もあり、その場合には化学薬品と同じように構造式、分子式、分子量、CAS 番号で構造を明記する。

一方、タンパク質構造のみで構成される生物薬品でも高分子の場合あるいは糖タンパク質構造をもつ場合などでは、構造が複雑であったり多様であったりするために化学薬品と同じように表記することができない場合が多い。このような場合には、生物薬品の本質（構造）を規定するための特別なルールが必要になる。

以下、このような生物薬品の本質（構造）を規定するために必要な記載事項について述べる。

・ペプチド鎖に関する本質（構造）情報の記載

ペプチド鎖を持つ生物薬品では、ペプチド鎖の鎖数（一本鎖か二本鎖など）やサブユニット数が重要な構造情報であり、この記載が必要である。

分子式や分子量が均一な場合には、ペプチド鎖のアミノ酸残基数を記載し、ペプチド鎖ごとの分子式および分子量も記載する。

ジスルフィド結合を持つ場合には、その結合位置を記載する。

ペプチド鎖にアミノ酸の欠失や置換、あるいは、ペプチド鎖の断片化などが起きていればその情報についても記載する必要がある。

・ペプチド鎖の修飾に関する本質（構造）情報の記載

糖タンパク質である場合には、糖タンパク質であることを記載する。

糖鎖修飾や化学修飾（PEG 化など）などについて、修飾体の化学構造、修飾の数、主な修飾位置などを記載する。

糖鎖修飾については主要な糖鎖構造（2～3 個）を記載する。

糖鎖を改変した場合にはその内容を記載する。分子式や分子量が均一の場合にはその分子式

と分子量を、不均一な場合には分子量を適切な方法（質量分析法、SDS-PAGE 法、ゲルろ過法、超遠心法など）で測定し概数を記載する。

・製造方法に基づく本質（構造）情報の記載

糖タンパク質などでは、製造方法が本質（構造）を規定するための重要な要件になる場合が多い。天然あるいは培養細胞由来の場合には由来する動物種名や細胞名を記載する。

遺伝子組換え体の場合には、遺伝子組換えであることを記載する。

以下、JP15 収載の生物薬品について本質（構造）についての記載状況を調査した結果を列記する。

C-9-3: JP に収載されている生物薬品に関する各論

・プロチレリンおよびプロチレリン酒石酸塩水和物

トリペプチド性医薬品であるプロチレリンは、下垂体ホルモン放出促進ペプチド類を示す「-relin」のサブシステムで甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン誘導体を示す「-tirelin」を持つ。

JP15 では、プロチレリンおよびプロチレリン酒石酸塩水和物の構造情報として、化学構造式、分子式、分子量、化学名、CAS 番号が記載されており、本質（構造）情報が明示されている。

EP5 に記載されている Protirelin も、JP15 の記載と同様に、化学構造式、分子式、分子量、化学名が記載されている。CAS 番号の記載はない。加えて EP5 では、基原として、天然の視床下部神経ホルモンと同一のアミノ酸配列を持つ合成ペプチドであることを記述している。

USP には、Protirelin 類は収載されていない。

・ゴナドレリン酢酸塩

アミノ酸 10 残基からなるペプチドであるゴナドレリンはプロチレリンと同様の下垂体ホルモ

ン放出促進ペプチドであり、ステム「-tirelin」を持つ。

JP15には、ゴナドレリン酢酸塩が記載されており、化学構造式、分子式、分子量、化学名、CAS番号が記載されている。化学構造式は、5-オキシ化されているN末端のプロリンを化学構造式で表し、その他のペプチド鎖は三文字表記のアミノ酸略号で記載されている。また、C末端のカルボン酸がアミド化されていることも表記されている。JP記載のゴナドレリン酢酸塩は二酢酸塩であることが、化学構造式、分子式、分子量、化学名、CAS番号でわかる。

EP5のゴナドレリンは、一酢酸塩である。構造情報の記載はJP15と同様であるが、CAS番号の記載はない。基原として、化学合成で製造されることが記述されている。

USPには、Gonadorelinは記載されていない。

・オキシトシン

オキシトシンは下垂体後葉から分泌されるホルモンで、ヒトのオキシトシンはアミノ酸9残基からなるペプチドである。オキシトシン誘導体類を示すシステムである「-tocin」を持つ。

JP15には、前出の下垂体ホルモン放出促進ペプチド類と同様に、構造情報として、化学構造式、分子式、分子量、化学名、CAS番号が記載されている。9個のアミノ酸は三文字表記で、また、C末端がアミド化されていること、および、分子内ジスルフィド結合も表示されている。また、基原に合成品であることが記載されている。

EP5では、アミノ酸配列が三文字表記で記載され、C末端のアミド化、ジスルフィド結合、分子式、分子量が記載されている。CAS番号は記載されていない。基原として合成品であることが記載されている。

USP31では、ペプチド鎖が一文字表記のアミノ酸略号で表記され、分子式、分子量CAS番号が記載されているが、構造式にC末端のア

ミド構造が欠落している。また、基原として、合成品あるいは動物の下垂体後葉由来であることが記載されている。

・インスリン

インスリンは、膵臓小島のβ細胞から分泌されるペプチドホルモンである。JP15には、インスリンとヒトインスリン（遺伝子組換え）が記載されている。

JPに記載されているインスリンは、ウシまたはブタ由来であるが、由来のみが書かれている。ウシ由来のインスリンもブタ由来のインスリンも共に21個のアミノ酸残基からなるA鎖と30個のアミノ酸残基からなるB鎖がジスルフィド結合で結ばれている。両者は、A鎖の8番目と10番目のアミノ酸が異なる。

EP5には、ウシ由来のインスリン（Insuline, Bovine）とブタ由来のインスリン（Insuline, Porcine）が別々に記載されている。構造情報は、JPとは異なり2本のペプチド鎖のアミノ酸配列とジスルフィド結合、分子式、分子量が記載され、A鎖の21番目のAsn欠落体の存在%についても記述している。

USPのインスリンは、JPと同様にウシまたは/およびブタ由来のインスリンである。USP31には、ウシおよびブタのインスリンのペプチドのアミノ酸配列がアミノ酸の一文字表記で記されている。また、それぞれの分子式、分子量、CAS番号も記載されている。

JPのインスリンについても、USPやEPと同様の構造情報が記載されることが望ましい。しかし、現在、日本ではインスリンは市場に流通しておらずJPからの削除が検討されている。

・ヒトインスリン（遺伝子組換え）

ヒトインスリン（遺伝子組換え）は、JPに最初に記載された遺伝子組換え医薬品である。ヒト由来のインスリンとブタ由来のインスリンは、B

鎖 C 末端の 30 番目のアミノ酸が異なる。ヒトインスリン (遺伝子組換え) は、遺伝子組換え技術によって産生され、ヒトのインスリンと同じ化学構造を持つインスリンである。JP15 には、本質 (構造) に関する情報として、アミノ酸配列、ジスルフィド結合の位置、分子式、分子量および CAS 番号に加えて遺伝子組換え技術によって製造されていることが記載されている。

EP5 では、JP と同様の記載に加えて、A 鎖の 21 番目の Asn 欠落体の存在率についても、成分 (Content) の項目に記載されている。

USP31 の Insulin Human は、二本のペプチド鎖がアミノ酸の一字表記で記載され、二本鎖間の二つのジスルフィド結合、分子式、分子量、CAS 番号が書かれている。なお、USP の Insulin Human は、遺伝子組み換え技術による製造に加えて、ブタのインスリンを酵素を用いたアミノ酸変換反応によってヒトのインスリンのアミノ酸配列に変換する方法でも製造されており、その場合のブタ由来のインスリンの含量についても規制も記載されている。

・セルモロイキンとテセロイキン

セルモロイキンとテセロイキンは、インターロイキン (interleukin) 類を示すステム「-kin」のサブシステムでインターロイキン-2 類を示すサブシステム「-leukin」を持つ。JP15 には、セルモロイキンとテセロイキンが記載されている。これらはいずれもヒトインターロイキン-2 の cDNA を導入した大腸菌で製造されるタンパク質であり、セルモロイキンは天然のインターロイキン-2 と同じ 133 個のアミノ酸からなるペプチドであるのに対して、テセロイキンは N 末端にメチオニン 1 残基が付加した 134 個のアミノ酸残基からなっている。いずれも、天然のインターロイキン-2 とは異なり糖鎖は付加していない。JP15 には、それぞれの正名に遺伝子組換え医薬品であることを示す「(遺伝子組換え)」がついている。また、

本質 (構造) に関する情報として、アミノ酸配列、ジスルフィド結合、分子式、分子量および CAS 番号が記載されている。また、基原として大腸菌で製造されることが記載されている。局方の記載は、これらインターロイキン-2 類の本質 (構造) 情報を明示している。

セルモロイキンとテセロイキンともに USP および EP には記載されていない。

・バソプレシン

「-pressin」は、血管収縮薬及びバソプレシン誘導体を示すステムである。バソプレシンは下垂体後葉から分泌される抗利尿ホルモンでありヒトを含む大部分のほ乳類のバソプレシンはアミノ酸 9 残基からなるペプチドである。

JP15 には、バソプレシン注射液が記載されているおり、本質 (構造) に関する情報として由来 (ウシまたはブタ、あるいは、合成) のみが記載されている。

USP には、Vasopressin が記載されている。USP31 には、アミノ酸一字表記のペプチド鎖、ジスルフィド結合、8 番目のアミノ酸の由来による違い (Arg または Lys)、分子式と分子量、CAS 番号、および、由来 (ブタまたは他の動物、あるいは、合成) が記載されている。

バソプレシンは EP には、非記載である。

JP 収載品はバソプレシンの製剤品である。

一方、JP にはバソプレシンの原薬が記載されていない。JP にバソプレシンの原薬が記載され、バソプレシンの構造情報が明記されることが必要である。

・ウロキナーゼ

ステム「-ase」は酵素類を示す。ウロキナーゼはセリンプロテアーゼ (EC:3.4.21.73) の一つで、411 個のアミノ酸残基からなる分子量約 54,000 の糖タンパク質であり、分子量約 22,000 の A 鎖と分子量約 33,000 の B 鎖がジスルフィド結合で結

合した二本鎖タンパク質である。

JP に記載されているウロキナーゼは、ヒト尿から精製した高分子量型ウロキナーゼである。JP には、CAS 番号と、本質記載に分子量約 54,000 の酵素であるという情報のみが記載されている。

EP5 には、Urokinase が記載されている。分子量情報として、分子量約 33000 の低分子質量のものと同分子量約 54000 の高分子質量のものとなり、高分子量のもものが主であること、ヒトの尿由来であることなどが記載されている。アミノ酸配列についての構造情報は記載されていない。

USP には、ウロキナーゼは記載されていない。

JP のウロキナーゼの本質（構造）情報に、糖タンパク質であること、ペプチド鎖に関する構造情報（分子量、アミノ酸配列など）およびペプチド鎖の修飾に関する構造情報が記載されることが望ましい。

・β-ガラクトシダーゼ（アスペルギルス）およびβ-ガラクトシダーゼ（ペニシリウム）

β-ガラクトシダーゼは、非還元末端のガラクトースを分解するエキソグリコシダーゼで、乳糖を分解する作用を持つ。JP15 にはアスペルギルスが産生する β-ガラクトシダーゼ（アスペルギルス）とペニシリンが産生する β-ガラクトシダーゼ（ペニシリウム）が記載されている。本質（構造）に関する情報としては、ともに CAS 番号と産生菌の名前が書かれているのみであり、構造に関する情報は全く記載されていない。

β-ガラクトシダーゼは、USP および EP には記載されていない。

・カリジノゲナーゼ

カリジノゲナーゼは、血液中のキニノーゲンに作用してキニンを遊離するタンパク質分解酵素である。医薬品としてはブタの膵臓由来のものが使用されている。JP15 には、本質（構造）に関する情報として、CAS 番号と由来のみが記載さ

れている。

カリジノゲナーゼは、USP および EP には記載されていない。

・ジアスターゼ

ジアスターゼは、デンプンを加水分解する酵素の総称である。JP15 には、麦芽から精製したものが記載されているが、本質（構造）に関する情報として、由来（麦芽）のみが記載されている。

ジアスターゼは、USP および EP には記載されていない。

・セラペプターゼ

セラペプターゼは、セラチア属細菌から精製したタンパク質分解酵素である。JP15 には、本質（構造）に関する情報として、CAS 番号と由来（セラチア（*Serratia*）属細菌から製したもの）のみが記載されている。

セラペプターゼは、USP および EP には記載されていない。

・性腺刺激ホルモン

「(-)gonadotropin」は、性腺刺激ホルモン類を示すシステムである。JP には、血清性性腺刺激ホルモン、注射用血清性性腺刺激ホルモン、ヒト下垂体性性腺刺激ホルモン、ヒト絨毛性性腺刺激ホルモン、注射用ヒト絨毛性性腺刺激ホルモンが記載されている。

このうち、たとえば、ヒト絨毛性性腺刺激ホルモンは、92 個のアミノ酸残基からなる α 鎖 1 分子と 145 個のアミノ酸残基からなる β 鎖 1 分子から構成される糖タンパク質である。JP15 には、本質（構造）に関する情報として由来のみが記載されている。

USP31 には、Chorionic Gonadotropin が記載されており、ポリペプチドホルモンであることと由来が記載されている。

また、EP にも、Chorionic Gonadotrophin が記載

されており、由来と糖タンパク質であることが記載されている。

JPにおいても、本質（構造）情報として、糖タンパク質であることを記載した方がよい。

・ヘパリン及び低分子量ヘパリン類

ヘパリンは D-グルコサミンおよびウロン酸の 2 糖単位からなる硫酸化グリコサミノグリカンである。ヘパリン及び低分子量ヘパリン類は、ステム「-parin」を用いて命名される。

JP15 には、原薬として、ヘパリンナトリウムとバルナパリンナトリウムが記載されている。ヘパリンナトリウムは、硫酸化グリコサミノグリカンのナトリウム塩であるが、JP15 には、本質（構造）に関する情報として由来のみが記載されている。

EP5 には、Heparin Sodium が記載されており、加水分解すると D-グルコサミンなどが生成することが記載されている。なお、JP15 の第 2 追補ではヘパリンナトリウムの記載内容が修正され、化学構造式、CAS 番号、および由来などの本質（構造）情報が記載される予定である。

バルナパリンナトリウムは、ヘパリンナトリウムを過酸化水素および酢酸第二銅で分解して得られる低分子量ヘパリンであり、平均分子量は 4,500 から 6,500 である。JP15 に記載されているバルナパリンナトリウムは、本質（構造）情報として、硫酸化グリコサミノグリカンの構造式、質量平均分子量、由来および製法が記載されている。

EP5 には、Parnaparin Sodium が記載されている。本質（構造）情報として、硫酸化グリコサミノグリカンの構造式、質量平均分子量、硫酸化の度合い、由来および製法、などが記載されている。

ヘパリンカルシウムは JP15 の第 2 追補に記載予定である。ヘパリンカルシウムでは、本質（構造）情報として硫酸化グリコサミノグリカン構造と CAS 番号および由来が記載される予定である。

EP5 には、Heparin Calcium が記載されており、

EP5 に記載された Heparin Sodium と同様に加水分解すると D-グルコサミンなどが生成すること、および由来と製造法が記載されている。

なお、USP には、ヘパリン類は記載されていない。

ヘパリンおよび低分子量ヘパリン類は、JP15 の第 2 追補において、本質（構造）情報が明示されるような記載方法に整備・調和される。

D. 考察および結論

D-1 : 局方国際調和の促進に関する研究

2008 年度は 2 回の PDG 及び ICHQ4B が開かれた。PDG では、1 項目の一般試験法及び 4 項目の医薬品添加物が新規に国際調和に至った。改定項目数は、一般試験法が 5、医薬品添加物が 4 であった。これらは、2009 年 3 月、2009 年 9 月もしくは、2011 年 3 月に日本薬局方（JP）に記載予定である。調和対象とされた全項目数に対する現時点までに国際調和した総計項目数は、一般試験法 35 項目中 27 項目、医薬品添加物 62 項目 40 項目となった。薬局方国際調和のプロセスを改善するため、各局担当者が毎月電話会議で進捗確認し、PDG 関連情報をオンライン上で保管利用する方法を開発することとされたが、電話会議の効果は顕著であると確認できた。また、PDG 関連情報を共有するサーバーを EP に設置することとされた。薬局方間で国際調和した項目を各極規制当局が受入れるための活動（ICHQ4B）については、溶出試験法が step2、崩壊試験法が step2、製剤均一性試験法が step2、微生物限度試験法が step4、注射剤の採取容量試験法が step4、注射剤の不溶性微粒子試験法が step4、無菌試験法が step2 としてそれぞれ合意に達した。なお、Colour については、未だ PDG での調和にさえずっておらず、残りの Q4B 評価対象項目となっている。また、Q4B/PDG 間のプロセスを改善するための方策や Q4B 評価対象品目の拡大を検討している。科学

技術等の進歩を受けて既存の PDG 国際調和文書に関する改定が一般試験法 1 項目、医薬品添加物 2 項目について提案されている。また、新規調和項目に関しても検討が始まった。さらに薬局方の国際調和に関連して、(1) Harmonization by provisions、(2) 合意署名後の Local requirements の変更への対応、(3) IR 確認試験の取り扱い、(4) 合意した FAQ の取り扱い、(5) 非調和箇所について該当局方に問い合わせる調査、(6) 重金属試験法の国際調和、(7) 外因性不純物 DEG の純度試験、(8) オブザーバー追加 (中国薬局方) 提案への対応などが検討事項として挙げられている。JP は、項目毎に対応策を検討し、必要に応じて、調査、情報収集、feasibility study などをふまえ、JP としての考え方、方向性を決めることとしている。

D-2 : 化学合成医薬品の試験法及び各条の改正に関する研究

最近 ICH で議論されている Q8~Q10 のガイドラインの精神とも言うべきものは、企業側が自主的に Good Practice に励み、それによって得られた成果に基づいた柔軟な品質保証のスタイルをアカウントビリティのある形で行政側に積極的に提案すること、行政側がそうした方向での企業の努力を奨励し、企業からの提案を科学的な判断に基づいて柔軟性をもって認めていくことと考えられるが、試験結果の信頼性確保は、製品の品質確保と並んで、企業側が Good Practice に励み、行政側からの信頼を勝ち取るべき対象と考えられる。医薬品の品質試験については信頼性のある結果を与えるような試験方法および分析システムを用いて行う必要があるが、本研究では『試験結果の信頼性確保』のための指針を日局参考情報に、『システム適合性』として掲載するための案を作成した。この中には『試験法適用時の検証』、『システム適合性』および『分析システム変更時の管理』の3つのコンセプトが盛り込まれている。

これらコンセプトを『分析バリデーション』のコンセプトをあわせて実施することで、分析結果の信頼性が確保される。

D-3 : 生物医薬品の試験法及び各条の改正に関する研究

昨年、EMEA バイオシミラーガイドライン、カナダ医薬品庁及び WHO のガイドライン案や文献等の調査結果より、我が国のバイオ後続品指針としてどのような課題があるのかを明らかにした。本年度は昨年度の調査研究に基づき、ガイドラインに書くべき具体的内容について検討を行った。その結果、表 1 に示したような構成でバイオ後続品の開発に必要な項目は網羅されると考えられた。

また、バイオ後続品の定義や基本的な考え方を「はじめに」として記載し、特に我が国の細胞培養医薬品や組換え DNA 医薬品に関する通知等と齟齬のある箇所について、適切な注釈をつけることが適切であると考えた。

また、バイオ後続品は新有効成分医薬品でも、後発医薬品にも該当しないことから、あらたな申請枠を設けることが適切と結論した。

対象範囲は、高度に精製され、十分な特性解析が可能な組換えタンパク質医薬品とすることとし、生体由来タンパク質医薬品にも適用可能な場合もあるとした。

また、バイオ後続品開発における一般原則を示し、頑健性と恒常性のある製造方法を独自に確立し、新薬と同等の品質特性解析が必要であるとした。その上で、先行バイオ医薬品との類似性を示すことを求めた。これらのデータに基づき、また、先行バイオ医薬品の特性も考慮し、適切な非臨床試験を実施することとした。そして、品質・非臨床試験等のデータに基づき臨床試験をデザインし、先行バイオ医薬品との同等性・同質性を示すことが必要と結論した。

製造方法の確立、品質特性解析、先行バイオ医

薬品との品質の比較試験、非臨床試験、臨床試験、市販調査等に考慮すべき事項をまとめた。

バイオ後続品の開発では、どれだけ臨床試験を実施する必要があるのかが大きな課題であるが、製品ごとにその要件は変わるだけでなく、品質特性での類似性をどの程度立証されているか、あるいはこれまでの知見や経験などを考慮しなければならず、一律に記載することは適切ではないと考えられた。また、免疫原性の評価についても、長期投与を行う場合には特に配慮が必要となる。また、市販後調査も含めて評価、とするか、検討が必要とした。

基本的にはバイオ医薬品は、新薬と異なり承認時までには全てのことが解明されているわけではないと想定され、市販後調査の重要性は高いと考えられる。したがって、有害事象を正確に把握するために、承認後も一定期間は先行バイオ医薬品からのバイオ後続品への変更は可能であるが、混用を避けるべきと結論した。

D-4 : 生薬に関する試験法及び各条規格の改正に関する研究

日本薬局方の改正に関する研究の一環として、サンシュユの成分含量測定法設定に関しては、各種市場品65検体を収集し、現在検討中の試験法を用いて指標成分であるロガニンの含量を測定した。同時に数種のカラムを使用し、システム適合性試験を実施した。この結果、分離度及び相対標準偏差とも良好なデータが得られ、本試験法はサンシュユの成分含量測定法として設定可能と考えられた。

また、ソヨウに関しては、シソ特有の精油成分であるペリラルデヒドを成分含量測定法にて、ロスマリン酸を確認試験法にて規定することにより、近年市場で散見される粗悪な中国産ソヨウの流通を防ぐことが可能となると考えられた。また規格作成にあたり精油成分のペリラルデヒドの溶媒中の安定性を検討した。さらに一部の中国産ではペリラルデヒドをほとんど含まず、変異原性を有する

(E)-アサロンを多く含有することが明らかとなった。

D-5 : 医薬品添加剤の試験法及び各条規格の改正に関する研究

FRC の中でも、ヒプロメロースにおける「粘度」や「置換度」は添加剤の基本的なタイプを同定するために必要な物理的特性であり、このような場合は各条の中の mandatory section に入れるというのは異存のないところと思われる。それ以外の場合の FRC をどのように取り扱うべきかを考察したい。

薬理作用を有する医薬品原薬の場合、化合物としての確認、純度、含量等に関する規格および試験法を局方ユーザーに提供することで、安全性と有効性が担保される。それに対し、添加剤の場合、最終製剤に必要な機能を与えることが使用目的であり、目的に合致した機能が実現できるかは、純度や含量などの化学的な特性よりは、むしろ FRC に依存すると言ってよい。従って、添加剤の場合は純度や含量などの化学的な特性に加え、FRC とその試験法の記載が不可欠であると考えられる。したがって JP においても記載する方向で検討すべきと考える。

評価すべき FRC は最終製品ごとに異なり、また、当然のことながら許容基準も異なる。従って、各条に記載する FRC は適切な測定法を示すことが必須であり、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。

記載する場所は USP のように General chapter に記載するのではなく、各条に記載するのが望ましいと考えられる。なぜなら、EP のヒプロメロースにおいて「見かけ粘度」の試験法が記載されているように、FRC の試験法は General chapter に記載された方法のみでは対応できない場合が多いからである。また、各条に記載することにより、より適切な試験法が開発されたときにフレキシブルに対応できる利点もある。薬局方のユーザーにとっても、各条に記載されているほうが便利で

あると考えられる。

許容基準値を記載せず、判定基準としない FRC を局方に入れることに対して、局方になじまないのではないかと。あるいは、添加剤メーカーと製剤メーカーの間で個別に対応すればよいのではないかと。という反対意見があるかも知れない。しかし、局方の性状の項や製剤に関する貯法の項の保存条件は判定基準としないことが明記されており、FRC も性状と同様の考え方で取り込むことが可能と思われる。また、グローバル化が進む現在、複数のメーカーから供給される添加剤を使用する製剤メーカーは多く、FRC の適切な試験法があれば、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。

FRC に関する記載を添加剤各条の中に入れようとする考えは、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。すなわち、PAT や Quality by Design などの考えを取り入れた製剤の製造のためには、製剤メーカーはキーとなる FRC 特性の変動が製剤 performance に及ぼす影響を理解し、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が必要である。USP も FRC に関する講演を行う際に、FRC と "Quality by Design" とリンクさせて説明しており、新たなガイドラインに従った医薬品製造を加速させるためにも FRC の局方への取り込みは重要と考えられる。

D-6 : 理化学試験法の改正に関する研究

本年度の研究では、平成 19 年度の研究で無機金属標準原液を用いて検討した濃縮条件をラット体毛の溶液化試料に適用し、実際の生体試料にもその検討内容が応用可能かどうかを検討した。まず、前年度における検討によって確立した濃縮条件をそのまま適用したが、溶離液から Au が全

く検出されず、前年度の条件そのままでは生体試料には応用できないということが分かった。

そこで塩化物イオンを少量添加し、ラット体毛中の Au を $[AuCl_4]$ に変換してから DEAE カートリッジに通し、濃縮を試みた。その結果、塩化物イオンにより濃縮回収率は上がることが分かった。しかし、塩化物イオンの添加により濃縮回収率が上がったとは言っても 20 %前後であり、塩化物イオンの添加のみでは不完全であることも同時に判明した。

金チオリンゴ酸ナトリウムを投与したラット体毛中に存在する Au の量が微量過ぎて濃縮がうまくいっていないのではないかと考え、少量の既知濃度の Au (III) を添加してから濃縮を試み、添加した Au (III) のみならず、もともとラット体毛中に存在する Au までも濃縮操作により検出されるかどうかを検討した。その結果、少量の既知濃度の Au (III) の添加により前年度の結果とほぼ 90%程度の濃縮回収率が得られることが判明し、試料溶液中の Au (III) の濃度は濃縮の可否を決定する大きな原因であったことが分かった。試料中に存在する Au の量が微量でも少量の既知濃度の Au (III) を添加して Au (III) の濃度を上げることにより、添加した Au (III) のみならずもともと試料中に存在していた Au (III) の濃縮までもが促進されるということを示している。これは、試料溶液に Au (III) を添加したことにより、DEAE と Au (III) が結合する反応において化学平衡が反応が進行する方向へシフトした結果、DEAE と Au (III) の結合反応が促進したのではないかと考えられた。

実際の生体試料中に応用することを考えた場合、濃縮したい成分が非常に微量であることが多いと考えられるが、本年度の研究結果により少量の既知濃度の被験物質を添加することで濃縮が出来る可能性を見出した。

D-7 : 物性試験法の改正に関する研究