

る。規格及び試験方法の設定に当たっては、ICH Q6B ガイドライン「生物薬品（バイオテクノロジー応用医薬品／生物起源由来医薬品）の規格及び試験方法の設定」に従う。

また、先行バイオ医薬品が日本薬局方等の公定書に記載されている場合には、原則的には公定書に記載された規格及び試験方法に準じて規格設定することが望ましい。しかし、バイオ医薬品の場合、公定書では必要なすべての規格が設定されているとは限らないことから、目的とするバイオ後続品の特性解析の結果や臨床試験結果等を考慮して、不純物プロファイルや生物活性等を含めて追加の規格及び試験方法を設定することが必要な場合もある。

## 7. 非臨床試験

バイオ後続品の開発においても、臨床試験を開始する前までに、少なくともヒトに投与するための安全性が確認されている必要がある。すなわち、安全性に関するデータの取得を含め、臨床試験を実施するために必要とされる非臨床試験が終了している必要がある。これら非臨床試験には、先行バイオ医薬品と不純物プロファイルが異なるバイオ後続品の安全性確認のための試験のように、バイオ後続品のみを対象として試験を実施する方が合理的な場合と、薬理作用の同等性確認試験のように先行バイオ医薬品と比較するための試験が適切な場合が含まれる。なお、不純物プロファイルが異なる場合においても、安全性確認のために先行バイオ医薬品との比較試験が妥当な場合もある。これらの非臨床試験については、必要に応じて ICH S6 ガイドライン「バ

イオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」を参考にして実施することが適当である。

糖タンパク質医薬品では糖鎖の不均一性が体内動態に大きく影響する場合もあり、バイオ後続品の同等性／同質性評価の一環として非臨床での薬物動態を比較することが有用な場合もある。

なお、非臨床試験の実施に当たっては、十分な品質特性解析が行われていることが前提になる。また、先行バイオ医薬品とバイオ後続品との品質特性における同等性／同質性の評価結果のみならず、同じ目的物質を有効成分とする他の製剤の使用実績や文献情報が安全性評価において重要な役割を果たすことがある。

### 7. 1. 毒性試験

バイオ後続品の単回投与毒性及び反復投与毒性を確認するためには、適切な動物種における反復投与毒性試験が有益であり、タンパク質医薬品であることを考慮してトキシコキネティクスについても検討することが有用である。また、単回投与毒性のみならず局所刺激性に関しても反復投与毒性試験において評価することが可能である。

培養工程や精製工程等製造工程の違いにより不純物プロファイルが異なる場合においても、先行バイオ医薬品とバイオ後続品との毒性プロファイルを直接比較することは必ずしも必要ではない。一方、不純物プロファイルの違いが存在することを考慮した上で、先行バイオ医薬品とバイオ後続品と

の毒性プロファイルを直接比較する方法もある。

特に、不純物プロファイルが大きく異なっている場合や、精製に用いるアフィニティクロマトグラフィーを独自に導入した場合のように先行バイオ医薬品に含まれていない新たな不純物（アフィニティクロマトグラフィー用担体に用いられる抗体等）が存在する場合には、不純物に着目した毒性試験の実施を考慮する。また、目的物質由来不純物のプロファイルが先行バイオ医薬品とは大きく異なる場合には、非臨床・臨床開発を通じて、その違いに着目した試験の実施が必要となる場合がある。

毒性プロファイルを直接比較するために動物で抗体産生を評価する場合、産生された抗体が中和抗体かどうか、あるいは薬物動態に影響を及ぼすかどうかを明らかにしておくことは、臨床における有用な情報となろう。

反復投与毒性試験の結果や先行バイオ医薬品において得られた有効成分の特性に関する情報から、特に必要と判断されない限り、バイオ後続品の非臨床試験として、安全性薬理試験、生殖発生毒性試験、遺伝毒性試験、がん原性試験等、その他の通常非臨床安全性試験の必要性は低いと考えられる。

## 7. 2. 薬理試験

薬理試験として、先行バイオ医薬品とバイオ後続品との薬理作用が同等/同質であることを直接比較する。なお、品質の特性解析試験として臨床効果と密接に関連する

*in vitro*での生物活性試験（細胞を用いた試験や受容体結合活性等）を実施し、先行バイオ医薬品とバイオ後続品の比較がなされている場合には、これを薬理試験として準用できる場合もある。しかし、ある種の糖タンパク質のように *in vitro*の活性が臨床効果と相関しない場合には、*in vivo*薬理試験によって薬効や薬力学における先行バイオ医薬品との同等性/同質性を確認することが必要となる。

*In vitro*生物活性等の同等性/同質性試験で十分な評価が可能な場合には、必ずしも *in vivo*での薬力学的効果に関する比較試験が求められるわけではないが、*in vivo*薬理試験を実施することにより臨床試験の前段階として有用な情報が得られることが多い。したがって、バイオ後続品と先行バイオ医薬品との同等性/同質性を確認するために、必要に応じて *in vivo*での薬効試験や薬力学試験の実施を考慮する。

## 8. 臨床試験

バイオ後続品では、一般に、品質特性及び非臨床試験結果のみによって、先行バイオ医薬品との同等性/同質性を検証することは困難であり、基本的には、臨床試験により同等性/同質性を評価する必要がある。

なお、臨床試験で用いる製剤は、確立された製法で製造されたものを用いることが基本的に求められるが、開発途上で製法変更があった場合には必要に応じて ICH Q5E ガイドラインにしたがって同等性/同質性を評価する。

後述する臨床薬物動態(PK)試験、薬力学(PD)試験又は PK/PD 試験により目的とする

臨床エンドポイントにおける同等性/同質性を保証できる十分なデータが得られた場合には、有効性に関する臨床試験を省略できる場合がある。

臨床試験による同等性/同質性評価は、得られたデータに基づき次の試験をデザインし、ステップ・バイ・ステップで実施すべきものであり、必要とされる臨床試験の種類と内容は先行バイオ医薬品に関する情報やその特性によっても大きく異なる。各々の製品について必要とされる臨床試験の範囲については、開発ステージで得られているデータに基づいてケース・バイ・ケースの対応が必要であるので、規制当局と相談することが望ましい。

#### 8. 1. 臨床薬物動態(PK)試験、薬力学(PD)試験及びPK/PD試験

原則的に、バイオ後続品と先行バイオ医薬品の薬物動態の同等性/同質性を適切にデザインされたクロスオーバー試験により確認する必要があるが、消失半減期が長い薬剤(抗体、PEG結合タンパク質等)やヒトで抗体産生が起こる医薬品については必ずしもクロスオーバー試験が適切でないこともあるので、特性を考慮した試験デザインを検討する。その際、先行バイオ医薬品や対象疾患によって、健康人を対象とすることが適切な場合と患者を対象とする方が適切な場合がある。また、先行バイオ医薬品の目的とする効能における投与経路と同様の投与経路で検討を行う必要があり、複数の投与経路を有する場合には原則的にはそれぞれについて検討する必要がある。原則的には、先行バイオ医薬品の推奨用量で

検討するべきであるが、先行バイオ医薬品の用量の範囲内で科学的に妥当な用量を選択することも可能である。主要な薬物動態パラメータとしては血中濃度曲線下面積(AUC)、最高血中濃度(C<sub>max</sub>)等が考えられるが、事前に同等性/同質性の許容域(同等性/同質性のマージン)を規定しておく必要がある。その際、設定した許容域の妥当性について十分な説明が必要である。

また、可能であれば製品の臨床効果を反映するPDマーカーを選択し、PDを指標にした比較を行うことが必要である。特に、技術的な問題で薬物動態試験が困難な場合においてはPDマーカーによる比較が有用である。さらに、PK/PD関係の解析により同等性/同質性の検討を行うことが望ましい。

#### 8. 2. 臨床的有効性の比較

品質特性の同等性/同質性評価試験等によって品質面での高い類似性が示されたものの、PK、PD若しくはPK/PD試験の結果をあわせても、臨床有効性の同等性/同質性の結論が下せない場合は、承認を得ようとする効能について、バイオ後続品と先行バイオ医薬品の有効性が同等/同質であることを確認するための臨床試験を実施することが必須となる。

臨床試験の実施に際しては、バイオ後続品と先行バイオ医薬品の有効性に関する同等性/同質性を確認するために、適切な比較試験をデザインし、その妥当性を説明する必要がある。具体的には、必要かつ妥当な症例数を設定するとともに、臨床的に確

立されたエンドポイントを用い、事前に同等性／同質性の許容域（同等／同質性のマージン）を規定しておく必要がある。適切な代替エンドポイントがある場合には、必ずしも真のエンドポイントを用いる必要はないが、その妥当性を裏付けるデータや文献等により十分な説明が必要とされる。

先行バイオ医薬品が複数の効能・効果をする場合、ある効能・効果において先行バイオ医薬品と有効性が同等／同質であり、他の効能・効果においても薬理的に同様の作用が期待できることが説明できるのであれば、対照薬として用いた先行バイオ医薬品が承認を取得している他の効能・効果をバイオ後続品に外挿することが可能となる場合もある。効能・効果の外挿が可能となるのは、対照薬として用いた先行バイオ医薬品の効能に限られ、先行バイオ医薬品以外の同種・同効の他の既承認組換えタンパク質医薬品の効能・効果は含まれない。

一方、それぞれの効能・効果で作用機序が異なっている場合、又はその作用機序が明確になっていない場合には、効能・効果ごとに先行バイオ医薬品と有効性が同等／同質であることを示すべきである。

### 8. 3. 臨床的安全性の確認

バイオ後続品は、有効性の同等性／同質性が示された場合であっても、安全性プロファイルが先行バイオ医薬品と異なる可能性がある。PK、PD 又は PK/PD 試験によって同等性／同質性が示され、有効性を評価するための臨床試験を実施しない場合であっても、必要に応じて免疫原性の検討を含む安全性に関する臨床試験の実施を検討する

必要がある。また、有効性を比較するための臨床試験を実施する際に、安全性（有害事象の種類、その頻度）を同時に検討するような試験計画としても差し支えない。

不純物プロファイルの解析結果から安全性について特に懸念がある場合には、十分な検討ができるよう症例数を設定する必要がある。

長期投与される医薬品においては、繰り返し投与試験の実施を考慮する。

なお、臨床開発の適切なステージで、抗体の出現の有無及びその他の免疫原性について、科学的に妥当な判断が可能な試験を行う。抗体の出現が認められた場合には出現した抗体について解析し、中和抗体であるかどうか確認し、抗体のクラス、親和性及び特異性についても解析することが望ましい。さらに、抗体の出現による有効性の低下や安全性への影響を確認することも考慮すべきである。また、不純物に対する抗体産生や特定の糖鎖抗原に対する反応性についても十分考慮すべきである。

## 9. 製造販売後調査

臨床試験の情報は一般に限られており、バイオ後続品にあつては、特に、免疫原性の問題等、後発品と異なる要素があることから、製造販売後に安全性プロファイル等について引き続き調査する必要がある。その際、開発段階の同等性／同質性評価では十分に評価できなかったリスクを予め想定し、それを踏まえ適切にデザインされた製造販売後調査計画を立案する必要がある。製造販売後調査とリスク管理計画の具体的な方法や計画については、規制当局と相談

し、承認申請に際して提出することが求められる。なお、製造販売後調査の結果については、バイオ後続品の承認後の適切な時期までに規制当局に報告する必要がある。

当該調査期間においては、有害事象のトレーサビリティを確保することが重要であり、先行バイオ医薬品や同種・同効医薬品とバイオ後続品とを、一連の治療期間内に代替又は混用することは基本的に避ける必要がある。

#### 適宜参考とすべき ICH ガイドライン

1. ICH Q2A ガイドライン 「分析バリデーションに関するテキスト (実施項目)」
2. ICH Q2B ガイドライン 「分析法バリデーションに関するテキスト (実施方法)」
3. ICH Q5A ガイドライン 「ヒト又は動物細胞株を用いて製造されるバイオテクノロジー応用医薬品のウイルス安全性評価」
4. ICH Q5B ガイドライン 「組換え DNA 技術を応用したタンパク質生産に用いる細胞中の遺伝子発現構成体の分析」
5. ICH Q5C ガイドライン 「生物薬品

(バイオテクノロジー応用製品/  
生物起源由来製品) の安定性試験」

6. ICH Q5D ガイドライン 「生物薬品 (バイオテクノロジー応用医薬品 / 生物起源由来医薬品) 製造用細胞基剤の由来、調製及び特性解析」
7. ICH Q5E ガイドライン 「生物薬品 (バイオテクノロジー応用医薬品 / 生物起源由来医薬品) の製造工程の変更ともなう同等性 / 同質性評価」
8. ICH Q6B ガイドライン 「生物薬品 (バイオテクノロジー応用医薬品 / 生物起源由来医薬品) の規格及び試験方法の設定」
9. ICH S6 ガイドライン 「バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価」

#### 用語集・定義

##### 1. 品質特性

製品の品質を現すのに相応しいものとして選択された分子特性又は製品特性であり、当該製品の同一性、純度、力価、安定性及び外来性感染性物質の安全性などを併せて規定されるものである。規格及び試験方法で評価されるのは、品質特性から部分的に

選択された一連の項目である。品質特性には、目的とする有効成分の力価や生物活性、物理的・化学的性質等のみならず、目的物質関連物質、目的物質由来不純物、製造工程由来不純物の種類や存在量も含まれる。

## 2. 目的物質関連物質

製造中や保存中に生成する目的物質の分子変化体で、生物活性があり、製品の安全性及び有効性に悪影響を及ぼさないもの。これらの分子変化体は目的物質に匹敵する特性を備えており、不純物とは考えない。

## 3. 不純物

原薬又は製剤中に存在する目的物質、目的物質関連物質及び添加剤以外の成分。製造工程由来のものもあれば目的物質由来のものもある。

## 4. 目的物質由来不純物

目的物質の分子変化体(例えば、前駆体、製造中や保存中に生成する分解物・変化物)で、目的物質関連物質以外のもの。

## 5. 製造工程由来不純物

製造工程に由来する不純物。これらには、細胞基材に由来するもの、細胞培養液に由来するもの、あるいは培養以降の工程である目的物質の抽出、分離、加工、精製工程に由来するもの(例えば、細胞培養以降の工程に用いられる試薬・試液類、クロマトグラフィー用担体等からの漏出物)がある。

## 6. (公的) 標準品

国際標準品及び国内標準品を指す。例え

ば National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC) から配布されている国際標準品、あるいは日本公定書協会から配布されている日本薬局方標準品が該当する。これらの標準品は、力価測定用、あるいは理化学試験用等であり、目的とされている試験以外の適用は不適切である。

## 7. 許容域(同等性/同質性のマージン)

先行バイオ医薬品との間の同等性/同質性を示すことを目的として、バイオ後続品と先行バイオ医薬品との比較試験を実施する際に、主要なエンドポイントについて二つの製品を比較するための信頼区間を示し、これ以上劣っては許容できないことを予め設定した大きさと、その区間との関係。

## D. 考察

### D-1. わが国でのバイオ後続品の指針として必要な要素

昨年の 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ていた。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「イントロダクション」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した。

対象範囲は、

WHO ではバイオ後続品/バイオシミラー医薬品を開発するための指針や指針案が相次いで発出されている。わが国でも、多くの企業でバイオ後続品開発の動きがあり、医療経済的な要望もあり、バイオ後続品の開発とその審査において、品質・安全性・有効性をどのように確保していくのかを明らかにしていく必要がある。本研究では、EMEA 及びカナダ医薬品庁の指針や指針案を中心に文献も含めてバイオ医薬品開発のために必要な要素について調査研究を行った。これらの調査研究に基づいて、次のような要素が、わが国の指針案に取り込まれるべきと考えられた。

対象とするバイオ後続品のガイドライン適用対象の候補として、1) 組換えタンパク質、2) 高度に精製されたタンパク質（細胞培養医薬品:t-PA やインターフェロン）、3) 高分子多糖（低分子ヘパリン等）が考えられるが、当面ガイドラインとして必要な要素を明確にしやすい、組換えタンパク質及び高度に精製されたタンパク質を対象とすべきであろうと考えられる。ただ、後者については、精製の程度で枠に入れるかどうかを決めるのは困難かも知れず、前者を主目的として作成し、後者の高度に精製された製品については、適用可能な場合には準用できるような指針が望ましいと考えられる。

すなわち、高度に精製された製品につい

ては、細胞基材の扱い（細胞種の違いを許容するか）とも関連し、また、高度に精製されていて特性解析できるものとして、尿由来ウロキナーゼのような製品も含まれる、とも解釈できる。

製法変更に関する ICH ガイドラインを引用し、「組織及び体液から分離されるタンパク質のような上記の範疇以外の製品にも適用できる場合がある。ただし、適用できるかどうかについて、製造販売業者は規制当局に相談すること」として、高度に精製された製品が適用対象になるかどうかは個別の判断による、とする方法も考えられる。

高分子多糖については、欧米のガイドラインでも取り扱われてはおらず、その特殊性から今回のガイドラインの適用対象とはしないことが妥当と考えられる。すなわち、低分子ヘパリン、ウロキナーゼ、血液製剤では、既にジェネリックとして臨床試験データもなく承認された製品もある。これらの製品の一部はヒト由来原料を用いた製品であることから、原料には新たな抗原性等の問題が生じないであろうとの判断があったものと推定される。ただ、現時点では、製法等に違いに基づく同等性・同質性の懸念から臨床試験を求めている。また、血液製剤については、基本的には適用対象外とすべきであろう。

合成ペプチド製品では製法や特性解析の容易さから原則的にジェネリック製品が可能と考えられていることもあり、ペプチドについては、遺伝子組換えにより製造されたもののみを適用対象とする。

バイオ後続品の要件として、目的とするアミノ酸配列が同じものに限るべきであろう。しかし、翻訳後の修飾により N

末端、C 末端アミノ酸の除去、修飾は目的物関連物質や目的物由来不純物としての取り扱いの中で整理をすべきであろう。

もう一つの大きな要件として、国内で承認された先行品がないものは認めない。また、品質や安全性、有効性の比較評価では、国内で承認された医薬品を参照医薬品として選び、試験を行う必要がある。

一般名が異なっても、後続品になることはありえる。後続品であるかどうかは規制当局の判断であり、INN の申請のタイミングにもよる。結果として、WHO とは異なる判断もありえる。この場合、後続品であることが承認された場合、名称等について何らかの行政的手続きが必要と思われる。すなわち、すでに JAN や INN の取得が行われていた場合には、再度 JAN 委員会にかけると必要があると思われる。

添加剤を含めた製剤設計は必ずしも先行既承認製品と同一でなくてもよい。特に、安全性の観点から、特定生物由来製品や生物由来製品を用いないという選択は推奨される場合もありえる。すなわち、バイオ後続品の開発において、製剤処方 は改良される場合も多いと考えられる。

宿主細胞の種類が異なるものを認めるかについては、2 つの要素が考えられる。一つは、単純タンパク質のように、糖鎖のような翻訳後修飾による目的とする有効成分の不均一性が無い場合には、主細胞の種類が異なっても、大きな懸念が生じないと考えられる。しかし、単純タンパク質であっても、E.coli で製造されたものと CHO で製造されたものでは、工程由来不純物プロファイルは大きくおと異なることか

ら、品質や安全性、あるいは抗体産生などに特別な配慮が必要な場合がある。また、糖タンパク質でも、糖鎖の heterogeneity が低く、構造上の同等性を明確に示すことができる場合は、宿主細胞の種類が異なってもよいという考え方もありえる。

一方、糖タンパク質で、糖鎖の heterogeneity が高く、構造上の同等性を示すことができない場合は、宿主細胞の種類が異なるものは、製造細胞の違いによる糖鎖に不均一性の評価が重要になる可能性が高い。しかし、宿主による糖鎖の違いと、製造工程や生産基材としての細胞の違いによる糖鎖の違いで、どちらの差異が大きいかは未だに十分なコンセンサスが得られているわけではない。従って、バイオ後続品開発メーカーがどのようなデータを提出できるかにより、バイオ後続品としての可否が判断されるべきと思われる。

「バイオ後続品」の定義づけとして、品質について高い類似性が認められ、あるいは類似性にいくつかの違いが認められたとしても、有効性・安全性は同等/同質であればよいとすべきと考えられる。臨床現場での混乱を考慮すると、用法・用量の違うバイオ後続品は認めにくいと考えられる。比活性が高い製品では、活性で投与量を規定する場合には用法・用量は同じになると想定されるが、重量で投与量が規定されている場合には、投与量が異なることになってしまうためバイオ後続品としての開発が困難になる可能性が高い。

作成すべきガイドラインとしては、まずは、包括的なガイドライン(製法、品質・特性解析、非臨床、臨床)を作成するのが



望ましいと考えられる。特に、品質・特性解析については、Q5Eに準じた評価を行うことを基本とするべきであろう。

また、糖鎖の問題を整理して記載する必要がある。

非臨床試験・臨床試験をどの程度実施すればよいかについてある程度の目標を明確にすることが開発側にとっては有用と思われる。ただし、糖鎖の不均一性の程度が、直接必要な非臨床試験・臨床試験の程度を意味するわけではないので、糖鎖等を含めた特性・品質に関する同等性/同質性のデータや製品に関するこれまでの情報を考慮して、必要な非臨床試験・臨床試験の程度が異なること銘記する必要があるであろう。

将来的には、EMEAから公表されているような製品ごとのガイドラインの作成は、包括的ガイドライン作成後の課題とすべきであろう。

## D-2 品質・臨床・非臨床で記載すべき重要事項/全体的な課題

品質・特性解析に関しては、製法を独自に確立すると共に、全ての特性解析の実施が必要と考えられる。また、造方法の一貫性(恒常性)と頑健性を独自に確立することが必須であろう。その上で先行バイオ医薬品との同等性/同質性評価は、製剤あるいは製剤から抽出した原薬を用いて実施する。

純度について、先行既承認製品との差が大きい場合は免疫原性などの問題が生じる懸念もある。製剤処方先行既承認製品と必ずしも同一でなくてもよいのではないか。

安定性に関しても、新規バイオ医薬品等と

同様に、実測でのデータや加速試験、過酷試験を行うことが必要である。また、製剤処方の違いにより、保存条件や有効期間が先行品と異なることも考えられる。しかし、著しく有効期間が異なる場合にはバイオ後続品としての開発は困難であろう。

## D-2. 非臨床

十分に品質特性解析ができていという前提で、特に不純物の問題等がなければ、非臨床試験の重要性は高くないであろう。ただし、非臨床試験を実施しないという選択はあり得ないのではないか。

薬力学的効果は、*in vitro* 生物活性などの品質評価試験で十分な評価がされていれば、非臨床試験で評価しなくてよい場合もある。

## D-3. 臨床

安全性の確認する目的で、認容性試験を実施する必要性については製品の特性によると考えられ、ケースバイケースの判断が必要であろう。また、用法・用量は先行品と同じということが前提と考えられ、基本的には用量設定試験は必要ないと考えられる。

先発品とPKを比較することが必要であり、また、comparabilityの評価の一環としてPK/PDを比較する。これらの試験のエンドポイントの選択により、バイオ後続品としての同等性・同質性が示される場合も想定される。そのためには、有効性を比較するのは適切なサロゲートマーカーがなければ現実的ではないであろう。

免疫原性はEMEAでは非常に重視されているが、我が国のガイドラインでも免

疫原性に関する記載が必要であろう。しかし、どこまでの解析を求めるのか、バイオ後続品の特性ゆえに特別な配慮が必要なのかを指針に示す必要が出てくる。また、免疫原性の評価を、一定数の臨床試験を実施して評価、とするか、市販後調査も含めて評価、とするか、検討が必要であろう。また、先発品でも免疫原性は市販後調査を含めて評価することにな

っているため、免疫原性評価に十分な例数の臨床試験を後続品に要求するのは難しいのではないかとと思われる。

基本的にはバイオ医薬品は、新薬とと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。したがって、市販後調査の中に抗体産生についての検討を盛り込むべきであろう。

表1. 代表的なバイオ医薬品の欧米での特許期間

製品	商品名	EU での特許有効期間	米国での特許有効期間
エボエチン $\alpha$	エボジン	消滅	2012年
エボエチン $\beta$	NeoRecormon	消滅	消滅
インターフェロン $\cdot\beta$ 1-a	Avonex	2012年	2008、2013年
インターフェロン $\cdot\beta$ 1-b	ベタフェロン	消滅	消滅
G-CSF	Neopogen	消滅	2013年
インターフェロン $\cdot\alpha$ -2b	イントロン	消滅	消滅
インターフェロン $\cdot\alpha$ -2a	Roferon-A	消滅	NA
IL-2	Proleukin	消滅(2007)	2012年
可溶性 TNF $\cdot\alpha$ 受容体	エンブレル	2010年	2009年
抗 TNF $\cdot\alpha$ 抗体	レミケード	2010、2011、2012年	2011年
抗 CD20 抗体	リツキサソ	2013年	2015年
抗 Erb2 受容体抗体	ハーセプチン	2014年	2014年
抗 EGF 受容体抗体	Erbitux	2010年	2015年
抗 VEGF 抗体	アバスタチン	2019年	2017年

Thomson Database of all Pharmaceutical Invention, August 2007

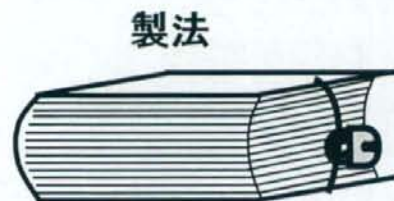
表2. 「バイオ後続品の品質・安全性・有効性確保のための指針」の構成

- 
5. 始めに
  6. 適用範囲 (対象)
  7. バイオ後続品開発における一般原則
  8. バイオ後続品の製法・品質特性解析
  4. 1. 製法開発
    - 宿主・ベクター系
    - セルバンクシステム
    - 培養・精製工程
  4. 2 特性解析 (構造解析、物理的・化学的性質、生物活性等)
  4. 3 製剤設計
  4. 4 安定性試験
  5. 品質特性に関する同等性/同質性の評価試験
    - ④ 構造解析、物理的・化学的性質に関する比較試験
    - ⑤ 生物活性に関する比較試験
    - ⑥ 免疫原性等に関する比較試験
  6. 規格及び試験方法
  7. 非臨床試験
    7. 1. 毒性試験
    7. 2. 薬理試験
  8. 臨床試験
    8. 1. 臨床薬物動態(PK)試験、薬力学(PD)試験 及び PK/PD 試験
    8. 2. 臨床的有効性の比較
    8. 3. 臨床的安全性の確認
  9. 製造販売後調査
- 適宜参考とすべき ICH ガイドライン
- 用語集・定義
1. 品質特性
  2. 目的物質関連物質
  3. 不純物
  4. 目的物質由来不純物
  5. 製造工程由来不純物
  6. (公的) 標準品
  7. 許容域 (同等性/同質性のマージン)
-

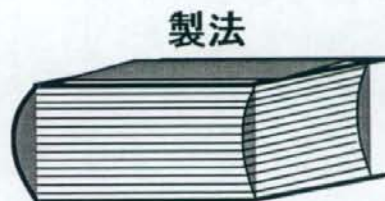
# 図1. バイオ後続品に求められるデータ

先行バイオ医薬品の申請資料

バイオ後続品の申請資料



≠



製法に独自に確立する必要がある

特性解析・品質



特性解析・品質



特性・品質解析に関する全てのデータ  
+ 先行メーカー製品との同等性データ

≡



非臨床試験



非臨床試験



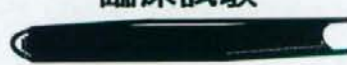
同等性試験

≡

臨床試験



臨床試験



≡

分担研究課題 生薬に関する試験法及び各条規格の改正に関する研究

分担研究者 川原 信夫 国立医薬品食品衛生研究所生薬部室長

—サンシュユ及びソヨウの成分含量測定法の新規設定並び  
にソヨウの確認試験法設定に関する研究—

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グ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。

追補では牛車腎気丸エキス、真武湯エキス及び八

協力研究者

嶋田康男 日本生薬連合会 技術委員会

山本 豊 日本生薬連合会 技術委員会

潤野裕之 医薬基盤研究所薬用植物資源研究セ

ンター筑波研究部 室長

寺林 進 横浜薬科大学 教授

味地黄丸エキスの3処方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グ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おらず、現在、新規測定法の検討を行っているところである。

A. 研究目的

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

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。

本研究では、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。また、薬用に用いるシソは、葉が赤紫色で、ペリラ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ラルデヒド臭のしない粗悪なものも紛れ込んでいる。現在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今回、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ので報告する。

## B. 研究方法

### 1) サンシュユの成分含量測定法に関する検討 試料

生薬試料：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 (Table 1) を用いた。

成分含量測定用試薬：成分含量測定用ロガニンは、東京生薬協会より提供を受けたものを用いた。

### 試験方法

本品の粉末約 1 g を精密に量り、共栓遠沈管に入れ、薄めたメタノール (1→2) 30 mL を加え、20 分間振り混ぜた後、遠心分離し、上澄液を分取

する。残留物は薄めたメタノール (1→2) 30 mL を加えて、更に 2 回同様に操作する。全抽出液を合わせ、薄めたメタノール (1→2) 30 mL を加えて正確に 100 mL とし、試料溶液とする。別ロガニンをデシケーター (シリカゲル) で 24 時間乾燥し、その約 10 mg を精密に量り、薄めたメタノール (1→2) を加えて溶かして正確に 100 mL とし、標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液 10  $\mu$  L ずつを正確にとり、次の条件で液体クロマトグラフィー<2.01>により試験を行い、それぞれの液のロガニンのピーク面積  $A_T$  及び  $A_S$  を測定する。

$$\text{ロガニンの量 (mg)} = W_S \times (A_T / A_S)$$

$W_S$ ：成分含量測定用ロガニンの秤取量 (mg)

### 試験条件

検出器：紫外吸光度計 (測定波長: 238 nm)

カラム：内径 4.6 mm、長さ 15 cm のステンレス管に 5  $\mu$  m の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲルを充填する。

カラム温度：50°C 付近の一定温度。

移動相：水/アセトニトリル/メタノール混液 (55:4:1)

流量：ロガニンの保持時間約 25 分となるように調整する。

### システム適合性

システムの性能：成分含量測定用ロガニン 1 mg 及び *p*-ヒドロキシアセトフェノン 1 mg を薄めたメタノール (1→2) 20 mL に溶かす。この液 10  $\mu$  L につき、上記の条件で操作する時、*p*-ヒドロキシアセトフェノン、ロガニンの順に溶出し、その分離度は 7 以上である。

システムの再現性：標準溶液 10  $\mu$  L につき、試験を 6 回繰り返すとき、ロガニンのピーク面積の相対標準偏差は 1.5% 以下である。

## 2) ソヨウの確認試験に関する検討

### 試料

検討用試料として、日本産流通品（栃木県産）3種類（a-c）、筑波研究部産2種（d: 50°C、3日間乾燥、e: 70°C、3日間乾燥）を用いた。ソヨウの指標性分として、精油成分ペリラルデヒド及び芳香族化合物ロスマリン酸についてそれぞれ検討した。

### (1) ペリラルデヒドを指標物質とした場合の確認試験法

ペリラルデヒドはその分子内に $\alpha, \beta$ -不飽和カルボニルを有することからUV 254 nmでの検出が可能と考えられた。また効率よくペリラルデヒドを抽出するための最適溶媒を検討するために、ソヨウをヘキサン、酢酸エチル、エタノールで抽出し、それぞれのTLCを比較した。

#### (方法案)

「本品の粉末 0.3 g をとり、ヘキサン 1.5 mL を加え、10 分間振り混ぜた後、遠心分離し、上澄液を試料溶液とする。別に薄層クロマトグラフィー用ペリラルデヒド標準品 3 mg をメタノール 5 mL に溶かし、標準溶液とする。これらの液について薄層クロマトグラフィーにより試験を行う。試料溶液及び標準溶液 20  $\mu$ L ずつにつき薄層クロマトグラム用シリカゲルを用いて調製した薄層板にスポットする。次にヘキサン/酢酸エチル混液(6:1)を展開溶媒として約 10 cm 展開した後、薄層板を風乾する。これに紫外線（主波長 254 nm）を照射するとき、試料溶液から得た数個のスポットのうち1個のスポットは、標準溶液から得たスポットと色調及び  $R_f$  値が等しい。」

### (2) ロスマリン酸を指標物質とした場合の確認試験法

ソヨウの特徴的成分にロスマリン酸があるが、

本化合物についても TLC による確認試験での指標成分となりうると考え、以下の方法を検討した。ロスマリン酸はその分子内にカフェー酸を有するため、UV 365 nm での観察が可能と考えられ、微量な場合にも有効と考えられた。

#### (方法案)

「本品の粉末 0.3 g をとり、メタノール 3 mL を加え、10 分間振り混ぜた後、遠心分離し、上澄液を試料溶液とする。別に薄層クロマトグラフィー用ロスマリン酸標準品 3 mg をメタノール 5 mL に溶かし、標準溶液とする。これらの液について薄層クロマトグラフィーにより試験を行う。試料溶液及び標準溶液 10  $\mu$ L ずつにつき薄層クロマトグラフィー用シリカゲルを用いて調製した薄層板にスポットする。次に酢酸エチル/水/ギ酸/酢酸(100)混液(120:2:1:1)を展開溶媒として約 10cm 展開した後、薄層板を風乾する。これに紫外線（主波長 365 nm）を照射するとき、試料溶液から得た数個のスポットのうち1個のスポットは、標準溶液から得た青紫色の蛍光を発するスポットと色調及び  $R_f$  値が等しい。」

## 3) ソヨウの成分含量測定法に関する検討

### (1) ペリラルデヒドの分析

ソヨウに含まれる精油成分ペリラルデヒドの成分含量測定法を検討した。

#### (方法案)

「本品の粉末約 0.2 g を精密に量り、共栓遠心沈殿管に入れ、メタノール 20 mL を加え、10 分間振り混ぜた後、遠心分離し、上澄液を分取する。残留物はメタノール 20 mL を加えて、同様に操作する。全抽出液を合わせ、メタノールを加えて正確に 50 mL とし試料溶液とする。試料溶液 20  $\mu$ L を正確にとり、以下の条件で液体クロマトグラフ

イーにより試験を行う。」

#### HPLC 試験条件

検出器：UV 検出器 230 nm

カラム：オクタデシルシリカゲルカラム C-18 (4.6 x 150 mm)

カラム温度：30℃付近の一定温度

移動相：水/アセトニトリル混液 (3:2)

流速：1.0 mL/min

#### (2) ロスマリン酸の分析

ソヨウに含まれる蛍光成分であるロスマリン酸の成分含量測定法を検討した。

本品の粉末約 0.2 g を精密に量り、共栓遠心沈殿管に入れ、メタノール 20 mL を加え、10 分間振り混ぜた後、遠心分離し、上澄液を分取する。残留物はメタノール 20 mL を加えて、同様に操作する。全抽出液を合わせ、メタノールを加えて正確に 50 mL とし試料溶液とする。試料溶液 10  $\mu$ L を正確にとり、以下の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行う。

#### HPLC 試験条件 1

検出器：UV 検出器 340 nm

カラム：オクタデシルシリカゲルカラム C-18 (4.6 x 150 mm)

カラム温度：30℃付近の一定温度

移動相：水/アセトニトリル/リン酸混液 (1600:400:1)

流速：1.0 mL/min

#### HPLC 試験条件 2

検出器：UV 検出器 340 nm

カラム：オクタデシルシリカゲルカラム C-18 (4.6x150 mm)

カラム温度：40℃付近の一定温度

移動相：水/メタノール/TFA (63:35:0.1)

流速：1.0 mL/min

#### 4) ペリルアルデヒドの安定性に関する検討

##### (1) UV 及び NMR による検討

ペリルアルデヒドは精油成分であるため、成分含量測定法などの分析において精密に量り取ることが困難であるが、もう 1 つの問題にその安定性が挙げられる。ペリルアルデヒドはその分子内にアルデヒドを有するためにアルコール存在下において容易にアセタールへと変化してしまう。アセタールに変化すると UV における極大吸収が変化してしまうため、正確な定量ができなくなる。そこで経時によるペリルアルデヒドの安定性を検討した。

##### (2) HPLC による検討

先に記載した HPLC 条件によってペリルアルデヒドの安定性を検討した。ペリルアルデヒドの原液をアンプル密封、サンプル管と保存容器を替え、保存温度を -20℃、5℃、室温（遮光、非遮光）に分けて、それぞれの減少率を検討した。また、ソヨウメタノール抽出液の安定性を調べるために、抽出液を同様に各保存容器、保存温度で検討した。

#### C. 研究結果

##### 1) サンシュユの成分含量測定法に関する検討

サンシュユ市場品 65 検体の乾燥物換算したロガニン含量を表 1 に示す。また、ロガニン標準品及び代表的な市場品サンシュユの HPLC チャートを図 1 に示す。さらにシステム適合性試験に使用したカラム及びそれらの分離度並びに相対標準偏差を表 2 に示す。

表 1 に示すように、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、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。

## 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(図2)。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(図3)。

## 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(図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(図5)。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した(図6-8)。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(図9)。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(図10-13)。

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

今回の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(図14, 15)。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(図16, 17)及び、単離後のNMR解析(図18)により、(E)-アサロンであると決定した。

## D. 考察

### 1) サンシュユの成分含量測定法に関する検討

今回の測定の結果、市場品のサンシュユ 65 検体には、ロガニンが0.36%~0.97%の範囲で含有されており、その平均は0.73%であることが明らかとなった。また、9社6種類のカラムを用いたシステム適合性試験の結果において、何れも良好な分離度及び相対標準偏差を示された。従って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であると考えられた。

### 2) ソヨウの確認試験及び成分含量測定法に関する検討

今回の検討結果から、薄層クロマトグラフィー

において、ロスマリン酸は 365 nm の長波長の紫外線照射において蛍光を発生し、微量な場合も検出できると考えられることから、確認試験においてはロスマリン酸を指標物質とすることが望ましいと考えられた。一方、HPLC による成分含量測定法では揮発性であるために薄層クロマトグラフィーでは検出しにくいペリルアルデヒドの含量を測定するのが良いと考えられた。しかしながら精油成分であるペリルアルデヒドは、メタノール中では極めて不安定であることが分かった。また、その後の検討で、一部の中国産ソヨウにペリルアルデヒド臭の全くしない試料が HPLC 分析により高いペリルアルデヒド含量を示したことから、ペリルアルデヒド保持時間上に重なりがあると予想され、その後 PDA、GC/MS、NMR による分析に (E)-アサロンであると決定した。(E)-アサロンは変異原性があると報告のある化合物で、その後の検討の結果、本化合物は国産のソヨウには全く含まれておらず、一部の中国産にしか含有されないことが明らかとなった。

以上の結果より、ソヨウの確認試験法に関しては前述のロスマリン酸を指標物質とした TLC 法、成分含量測定法についてはペリルアルデヒドの含量を規定し、最終的な分析方法は、(E)-アサロンの重なりを防ぐため、移動相を 35%アセトニトリル/水混液とすることが望ましいと考えられた。また、ソヨウは粉碎後に速やかに揮発してしまうため、試験方法には「本品から新たに調製した粉末」と記載することが望ましいと考えられた。

上記手法を用いることにより、近年市場に流通している粗悪な中国産ソヨウの国内流通を防ぐことが可能と考えられた。

#### (ソヨウ成分含量測定法) (最終案)

本品から新たに調製した粉末約 0.2 g を精密に量り、共栓遠心沈殿管に入れ、メタノール 20 mL を加えて 10 分間振り混ぜた後、遠心分離し、上澄液を分取する。残留物にさらにメタノール 20 mL を加え、同様に操作する。全抽出液を合わせ、メタノールに溶かして正確に 50 mL とし、試料溶液とする。別にペリルアルデヒド標準品約 10 mg を精密に量り、メタノールに溶かして正確に 100 mL とし、標準溶液とする。試料溶液および標準溶液 10  $\mu$ L ずつを正確に取り、次の条件で液体クロマトグラフィーにより試験を行い、それぞれの液のペリルアルデヒドのピーク面積  $A_T$  及び  $A_S$  を測定する。

$$\text{ペリルアルデヒドの量 (mg)} = W_S \times (A_T / A_S) \times (1/2)$$

$W_S$ : 成分含量測定用ペリルアルデヒドの秤取値 (mg)

検出器: 紫外吸光光度計 (測定波長: 230 nm)

カラム: 内径 4.6 mm、長さ 15 cm のステンレス管に 5  $\mu$ m の液体クロマトグラフィー用オクタデシル化シリカゲルを充填する。

カラム温度: 30°C 付近の一定温度

移動相: 水/アセトニトリル混液 (35 : 65)

流量: 1.0 mL/min

#### E. 結論

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グニン含量を測定した。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ルア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ルア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ルア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。

#### F. 健康危険情報

本研究において健康に危険を及ぼすような情報は無い。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) 寺林進、酒井英二、山路弘樹、近藤健児、川原信夫、合田幸広：ハトムギの“日本薬局方”収載のための基原と生薬の性状の規格。植物研究雑誌, 84 (2), (2009) in press.

##### 2. 学会発表

1) 淵野裕之、木内文之：ソヨウの日本薬局方モノグラフ収載項目の検討。日本生薬学会第54回年会、名古屋 (2007.9)

#### H. 知的所有権の取得状況

##### 1. 取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

表1 各種サンシュユの産地及びログニン含量

mean	0.73
SD	0.14
max	0.97
min	0.36
mean-2SD	0.45
mean-3SD	0.31
n	65

産地	入手年月	ログニン含量(%)
韓国	2007.10	0.96
中国・河南	2006.01	0.94
中国・陝西	2006.11	0.95
中国・陝西	2007.02	0.97
中国・河南	2007.03	0.94
中国・陝西	2006.03	0.97
中国・河南	2007.03	0.91
中国・浙江	2008.02	0.84
中国・浙江	2007.10	0.92
中国・陝西	2007.07	0.85
中国・安徽	2007.10	0.85
中国・陝西	2008.03	0.84
中国・安徽	2007.10	0.85
中国・陝西	2007.12	0.90
韓国	2007.01	0.83
中国・浙江	2006.02	0.82
中国・陝西	2008.01	0.84
中国・河南	2008.03	0.78
中国・浙江	2008.01	0.85
中国・河南	2008.01	0.79
中国・陝西	2006.10	0.79
中国・河南	2006.03	0.77
中国・浙江	2006.10	0.77
中国・河南	2006.08	0.71
中国・陝西	2006.09	0.76
中国・河南	2008.01	0.75
中国・河南	2006.10	0.76
韓国	2003.01	0.76
中国・陝西	2007.02	0.79
中国・陝西	2007.11	0.75
中国・河南	2007.11	0.68
韓国	2004.12	0.72
中国・陝西	2007.11	0.69
中国・陝西	2006.06	0.70
中国・河南	2005.03	0.70
中国・陝西	2006.10	0.71
中国・陝西	2008.03	0.79
中国・陝西	2006.05	0.69
中国・陝西	2007.05	0.66
中国・安徽	2004.03	0.64
中国・陝西	2008.03	0.77

産地	入手年月	ログニン含量(%)
中国・陝西	2008.03	0.77
中国・河南	2005.03	0.67
韓国	2001.02	0.67
中国・陝西	2004.04	0.68
中国・河南	2002.02	0.67
韓国	2002.02	0.65
韓国	2007.12	0.60
中国・陝西	2007.12	0.62
中国・陝西	2008.01	0.63
中国・陝西	2006.09	0.61
中国・陝西	2005.06	0.59
中国・陝西	2007.07	0.59
中国・河南	2006.10	0.61
中国・浙江	2006.10	0.60
中国・河南	2006.08	0.63
中国・陝西	2006.10	0.54
中国・陝西	2008.03	0.59
中国・陝西	2001.12	0.58
中国・陝西	2003.03	0.57
中国・河南	2003.12	0.55
中国・陝西	2002.12	0.52
中国	2007.04	0.46
中国・浙江	2002.01	0.41
中国	2007.10	0.36