

一般情報にAnalytical Instrument Qualification (AIQ, 分析機器の適格性評価)の規定を設ける意義ならびに試験結果の信頼性確保に関するUSPの考え方の全体像が記載されている。

①INTRODUCTIONの項では、分析機器の適格性評価の規定を設ける意義を次のように説明している：

「分析機器が複雑さを増し、自動化が進むにつれて、分析に携わる者が用いる機器の適格性を評価する必要性が増してきているが、分析法バリデーションやシステム適合性試験とは違って、現在、分析機器の適格性評価 (AIQ)に関するガイダンスや評価の方法を示したものは無い。分析機器の適格性評価の方法、ならびにそれを行う者の役割や責任に関してはさまざまな意見があり、これまで多様なアプローチが用いられてきた。

本規定では、AIQに対する科学的なアプローチを示すとともに、AIQを信頼性のあるデータを得るために必要とされる主要な要素の一つと位置付けた。適格性評価のプロセスに適用される厳格さの程度は、機器の複雑さと意図した用途に依存する。信頼性のあるデータを得る全プロセスの中でAIQの重要性を強調しておきたい。」

②COMPONENTS OF DATA QUALITYの項で、USPは信頼性のあるデータ (quality data)を得るうえで考慮すべき重要な要素として、図1に示したanalytical instrument qualification (分析機器の適格性評価)、analytical method validation (分析法バリデーション)、system suitability tests (システム適合性試験)およびquality control check samples (品質管理用試料の分析)の4つをあげている。それらの中で、分析機器の適格性評価は、信頼性のあるデータを得るうえでの基盤をなす重要な要素と位置付けられている。

(i) 分析機器の適格性評価

分析機器がその意図した目的に適う性能を示すことを文書化された形で示すこと。適格性が示された機器を使うことは、得られたデータの信頼性の向上に大きく寄与する。

(ii) 分析法バリデーション

分析法がその意図した目的に適う性能を示すことを文書化された形で示すこと。適格性が示された分析機器



図1 Components of data quality

(qualified analytical instruments)を用いてバリデートされた分析法を使うことは、その分析法により得られるデータは受け入れてよいものとの信頼性を与えてくれる。一般情報<1225>Validation of Compendial Proceduresには、USPやNFに記載される試験法のバリデーションに関して記載されている。

(iii) システム適合性試験

分析システムが試験法に規定された要件に適合する性能を示すことを検証すること。この試験は、分析システムが実際に試験を行う際に必要とされる性能を示すことが保証されるように、試料の分析と並行して行われる。一般試験法<621>Chromatographyには、クロマトグラフィシステムのシステム適合性試験に関するより詳細な記載がある。

(iv) 品質管理用試料の分析

分析者は、通常、標準物質や校正用の標準を用いて標準化された機器を使って分析を行う。しかしながら、(生物試料のようにもともとばらつきのある試料を分析する場合、非常にばらつきやすい試験法を用いる場合、あるいはばらつきの大きな分析機器を使用する場合など)、分析によっては試験が続けられている間にも当該の試験が適切に行われていることを保証するために、品質管理用試料の分析を試料の分析の間に行うことが要求されることがある。

以上のように、分析機器の適格性評価および分析法バリデーションは、事前に分析の質を保証しようとするものである。一方、システム適合性試験および品質管理用試料の分析は、試験の直前にあるいは試験中に分析の質を保証しようとするものである。

ここで紹介したUSPが信頼性のあるデータを得るうえで考慮すべき重要な要素としている4つの要素のうち、分析法バリデーションについては、日局においても日局13で参考情報に「分析法バリデーション」の規定が設けられている。また、システム適合性(試験)については、すでにPart 1および2<sup>1)</sup>で解説したように、日局15第1追補において一般試験法「液体クロマトグラフィー」および「ガスクロマトグラフィー」に規定が追加されるとともに、日局15第2追補において参考情報に「システム適合性」の一般的規定が記載されることになっており、これらの規定により試験結果の信頼性確保に関する日局の考え方が示されることになる。

一方、分析機器の適格性評価と品質管理用試料の分析は、日局に規定されていないコンセプトであるが、いずれも妥当な考え方であり、日局にも規定するかどうか今後検討すべきものと考えられる。

## (2) USP31<1225>Validation of Compendial Proceduresの記載から

### ① ICHの「分析法バリデーションに関するテキスト」

#### (ICH-Q2A&B)<sup>2,3)</sup>との関連

一般情報<1225>Validation of Compendial Proceduresに分析法バリデーションに関するUSPの考え方が示されている。この規定は、まえがきの末尾の“The text of this information chapter harmonizes, to the extent possible, with the Tripartite International Conference on Harmonization (ICH) documents *Validation of Analytical Procedures* and the *Methodology* extension text, which are concerned with analytical procedures included as part of registration application submitted within the EC, Japan, and the USA.”との記載からわかるように、ICHの「分析法バリデーションに関するテキスト」(ICH-Q2A&B)<sup>2,3)</sup>の記載との整合が図られたものとなっており、日局参考情報の「分析法バリデーション」の規定と基本的に同じ内容のものとなっている。

ただし、ICH-Q2A&Bが新薬の承認申請に用いられる試験法を念頭に置いたものであるのに対して、USPや日

局の規定は薬局方に標準試験法として記載される試験法を対象としたものであることから、両者の間には精度の評価に関する規定などに違いが認められる。

### ② 公定法適用時の検証のコンセプトに関する記載

一般情報<1225>のまえがきには次のような記載があり、USPやNFに記載の方法を使う場合であっても、事前に、その試験室のシステムを用いて、その方法が試験の目的に合う結果を出しうることを確かめる必要があることが明記されている：「cGMP規制[21 CFR 211.194(a)]においては、規格が設定された医薬品の適否を評価するのに用いられる試験法は、適切な正確さと信頼性の基準に適合することが求められている。また、この規制においては、USPやNFに記載の分析法を医薬品の試験に用いる場合には、それらの方法の正確さや信頼性についてバリデートする必要はなく、その方法が実際に使う条件の下で試験の目的に適合することを確かめておけばよいとされている。」

[原文：The Current Good Manufacturing Practice regulations [21 CFR 211.194(a)] require that test methods, which are used for assessing compliance of pharmaceutical articles with established specifications, must meet proper standards of accuracy and reliability. Also, according to these regulations[21 CFR 211.194(a)(2)], users of analytical methods described in USP-NF are not required to validate the accuracy and reliability of these methods, but merely verify their suitability under actual conditions of use.](下線は筆者による)

この記載は、Part 1<sup>1)</sup>で解説したように、日局15第2追補で参考情報に記載予定の「システム適合性」の規定のまえがきに、「日本薬局方などに記載されている試験法を含め、既存の試験法を医薬品の品質試験に適用する際に、試験を行う施設の分析システムを使って当該試験法が目的に合う試験結果を与えることをあらかじめ検証することが肝要であり、そうした検証を行った上で分析システムの稼働状態を日常的に確認する試験としてシステム適合性の試験を行う必要がある。」との記載を盛り込み、「試験法適用時の検証」を行うことの重要性を示すうえでの根拠の1つとなったものである。

### (3) USP31<1226>Verification of Compendial Proceduresの記載から

USP31で一般情報に収録された<1226>Verification of Compendial Proceduresは、一般情報<1225>のまえがきに簡単にしか記載されていなかった公定法適用時の検証に関するコンセプトについて、独立したchapterを設けて詳しく記載したものであり、USPがこのコンセプトを重視していることがわかる。

#### ①このchapterを設けた意図

一般情報<1226>のまえがきの冒頭に「このchapterの意図するところは、USPやNFに収録された試験法を初めて適用して品質試験を実施するときに、試験に供しうる試験者、装置、試薬を用いて目的に適う試験結果を与えることを示すために行われるべき検証に関する情報を提供することである。」との記載があり、公定法であってもそれを初めて用いるときには、当該試験室の分析システムを用いて目的に適う試験結果を与えることを検証すべき旨が明記されている。

[原文：The intent of this chapter is to provide general information on the verification of compendial procedures that are being performed for the first time to yield acceptable results utilizing the personnel, equipment, and reagents available.] (下線は著者による)

また、このまえがきには、1.(2)②項で紹介した一般情報<1225>のまえがきの記載と同様の趣旨の記載があり、cGMPにおける[21 CFR 211.194(a)(2)]の規定“suitability of all testing methods used shall be verified under actual conditions of use.”がこのchapterを設けた根拠となっていることが示されている。

#### ②試験者に関する記載

一般情報<1226>には、試験者に関して、「試験者は、公定法に書かれたことを理解し、実施しうるだけの適切な経験や知識をもつとともに、トレーニングを受けている必要がある。検証は、公定法が意図された通りに適切に実施されるとの信頼をおける試験者によって行われるべきである。」(原文：Users should have the appropriate experience, knowledge, and training to understand and be able to perform the compendial procedures as written. Verification should be conducted by the user such that the results will provide confidence

that the compendial procedure will perform suitably as intended.)、ならびに「検証の度合いや範囲は、試験者のトレーニングや経験のレベル、…に依存するであろう。」(原文：The degree and extent of the verification process may depend on the level of training and experience of the user, …)の記載があり、興味深い。

「公定法に書かれたことを理解し、実施しうるだけの適切な経験、知識やトレーニング」が不十分な者が試験者となって、試験結果の質が低下することを防ぐためには、そうした者への教育・訓練を体系的に行うようにするとともに、そうした事態が起こらないように何らかのチェックを行う(例えば、Part 1<sup>1)</sup>で述べた“分析システム変更時の管理”の対象とする)ことも必要ではないかと思われる。

#### ③公定法適用時の検証における要求事項

一般情報<1226>には、「公定法適用時の検証においては、フルバリデーションを行う必要はなく、一般情報<1225>にリストアップされた分析能パラメータのいくつかについて評価するのが適切であろう。その方法の検証に適切と考えられるパラメータのみを評価すればよい。」と記載されているが、これはPart 1<sup>1)</sup>で、日局15第2追補の参考情報に収録予定の「システム適合性」のまえがきに記載された“試験法適用時の検証”においてどのように“検証”すべきかに関して述べたことと一致している。

[原文：Although complete revalidation of a compendial method is not required to verify the suitability of the method under actual conditions of use, some of the analytical performance characteristics listed in chapter<1225>, Table 2, may be used for the verification process. Only those characteristics that are considered to be appropriate for the verification of the particular method need to be evaluated.]

### (4) USP31<621>ChromatographyのSystem Suitabilityの項の記載について

この項に、“システム適合性試験”に関するUSPの考え方が示されている。

#### ①システム適合性試験の位置付け

「システム適合性試験は、ガスクロマトグラフィーおよび液体クロマトグラフィーを用いた試験法に不可欠の

一部である。この試験は、クロマトグラフィーシステムの分離性能 (resolution) や再現性能 (reproducibility) が実施する分析に適切であることを検証するのに使われる。」と記載されており、特異性 (分離性能) と精度 (再現性能) を確保するための試験との位置付けを明確にしている。

## ②USPの評価要求項目

評価要求項目としては、resolution (分離度)、repligate injections (繰り返し注入の再現性) ならびに tailing factor (テーリング係数) の3つをあげている。

(i) 分離度：近接して溶出する成分が互いに分離することを、分析の特異性が適切であることの指標とするものである。

クロマトグラムにピークが1つしか現れないときには、カラム効率 (column efficiency) をシステム適合性の評価要求項目としてもよいが、分離性能を検証する手段としては、分離度を評価するよりも信頼性が低いとしている。

(ii) 繰り返し注入の再現性：標準液などを繰り返し注入したときのばらつき (相対標準偏差) が適合要件を満たすことを、分析の精度が適切であることの

指標とするものである。

個別の各条において別に規定されるもののほか、適合要件が2.0%以下の場合には、被検成分を5回繰り返し注入したデータから相対標準偏差を計算する；適合要件が2.0%より大きな場合には、被検成分を6回繰り返し注入したデータから相対標準偏差を計算するとしている。

(iii) テーリング係数：ピークの対称性の尺度であり、完全に対称なピークでは1となる。この値が1より大きくなるにつれて、テーリングは顕著になり、ピークの積分値 (したがって、精度) の信頼性が低下する。

分離度は、日局における「システムの性能」に、繰り返し注入の再現性は、「システムの再現性」に相当する。また、テーリング係数はシメトリー係数とはほぼ同義の用語である。なお、カラム効率は理論段数によって表される。

Part 2<sup>4</sup> において、HPLC/GC法にシステム適合性の規定を追加するにあたって、日局医薬品各条において「システムの性能」を規定する際に、溶出順の設定を必須とすべきかどうか問題となり、議論の結果、定量法においては溶出順の設定を必須としないことで決着をみ

**TOC分析計 500RL型**  
三極薬局方の有機体炭素試験法に適合  
製薬用水のオンライン測定に最適!

**TOCセンサー CheckPoint**  
製薬用水のモニタリング用  
バッテリー駆動式の完全携帯性!

**TOC分析計 InnovOx**  
高TOC濃度、高塩類濃度サンプル用  
超臨界水酸化方式で有機物を分解!

**TOC分析計 900シリーズ**  
三極薬局方の有機体炭素試験法に適合  
製薬用水の品質管理に最適!

**Sievers**  
の全有機炭素計は  
あらゆる用途に  
対応します!

GE Analytical Instruments 社 日本総代理店  
**セントラル科学株式会社**  
東京都文京区本郷3-23-14 ショウエイビル  
TEL:03-3812-9186 URL <http://www.aqua-ckc.jp>

DM資料請求カードNo.204

**Part 3** USPおよびEPに規定された試験結果の信頼性確保に関する考え方

たことを述べたが、上記のように、USPが特異性に関連するシステム適合性の評価項目としては分離度のみを要求し、溶出順については何も触れていないことから、溶出順の設定を必須とすることは妥当なこととは思われない。

USPが繰り返し注入の再現性における試験の回数を、 $RSD \leq 2\%$ の場合は $n=5$ 、 $RSD > 2\%$ の場合は $n=6$ のように、2%を境として場合分けして規定している理由については明らかにされていない。鹿庭<sup>2)</sup>も、Kristensen<sup>4)</sup>も、統計学的には $n=5$ でも $n=6$ でもあまり差がないとしており、確たる理由があつてのことではないように思われる。

また、EP、USPとも、シメトリー係数(テーリング係数)をシステム適合性の評価項目として要求しており、日局としても、必須の評価項目として要求すべきかどうか検討する必要があるように思われる。

**③繰り返し注入の再現性を確認する方法について**

「繰り返し注入の再現性は、試料の注入を始める前に標準溶液の注入を繰り返す形だけでなく、標準溶液の注入を試料の注入の間に散りばめる形で確認してもよい。適切なコントロール用の試料を適切な間隔で注入することにより、試験が続けられる間ずっと、システム適合性が維持されていることを示す必要がある。」

[原文: Replicate injections of the standard preparation required to demonstrate adequate system precision may be made before the injection of samples or may be interspersed among sample injections. System suitability must be demonstrated throughout the run by injection of an appropriate control preparation at appropriate intervals.] (下線は筆者による)

Part 2<sup>1)</sup>でも述べたように、日局においても、この規定を参考にして、HPLC/GC法のシステム適合性の項に「試料溶液の注入を始める前に標準溶液の注入を繰り返す形だけでなく、標準溶液の注入を試料溶液の注入の前後に分けて行う形や試料溶液の注入の間に組み込んだ形でシステムの再現性を確認してもよい。」との規定を設け、システム適合性試験を柔軟な形で行えるようにした。

**④システムの変更に関する記載**

「装置や試験結果に影響を与える可能性のある試薬を

変更するようなときはいつでも、試料の注入に先立って適合性試験を行うべきである。システム適合性試験の適合要件を満たさないときには、試料の分析を行ってはならない。分析システムが要件に適合しない間に得られた試料の分析結果は受け入れられない。」

[原文: Whenever there is a significant change in equipment or in a critical reagent, suitability testing should be performed before the injection of samples. No sample analysis is acceptable unless the requirements of system suitability have been met. Sample analysis obtained while the system fails requirements are unacceptable.] (下線は筆者による)

Part 1<sup>1)</sup>でも述べたように、日局15第2追補で参考情報に収載予定の「システム適合性」の一般的規定には、上記のUSPの規定よりももっと一般的な形の“分析システム変更時の管理”の考え方が盛り込まれた。

これは、直接には、日局15第1追補で改正された一般試験法HPLC/GC法にシステム適合性の規定を追加する際の溶出順の規定を巡る議論を契機として、参考情報に分析システム変更時の考え方を示す必要があることとされたため(Part 2<sup>1)</sup>参照)であるが、USPに上記の記載があったことも参考とした。

**2. EPに規定された試験結果の信頼性確保に関する考え方**

USPと異なり、EPには試験結果の信頼性確保に関するEPの考え方はまとまった形では示されていない。そこで、EPの一般試験法2.2.46. Chromatographic Separation Techniquesにおけるシステム適合性試験に関する規定について以下に紹介する。この一般試験法には、クロマトグラフィーにおける種々の用語の定義と計算式、一般に適用しうるシステム適合性の要件、クロマトグラフィーの試験条件調整の際の留意事項、ならびに定量の際の留意事項などが示されている。

なお、本稿においてはPharmeuropa Vol.18, No.3に掲載された改正案<sup>3)</sup>の記載に基づいて解説を行うこととするので、現行のEP 6.0 ed.記載の規定の内容と異なる点があることをご承知おきいただきたい。

**(1)用語の定義**

一般試験法2.2.46において定義されている種々の用語のうちで、システム適合性の規定の内容と関連して紹介

しておく必要があると思われるのは、RepeatabilityとMaximum permitted relative standard deviation ( $RSD_{max}$ )である。後者は、USPにも日局にも相当する記載がなく、EP独特の用語である。

**Repeatability**(繰り返し注入の再現性)：3回以上の連続した測定における相対標準偏差( $RSD_s$ )と定義されており、USPのReplicate injectionsに、また、日局のシステムの再現性(System repeatability)に相当する。

**Maximum permitted relative standard deviation ( $RSD_{max}$ )**：標準溶液の繰り返し注入から次式により求められる相対標準偏差の値として定義されており、定量法における繰り返し注入の再現性の許容される最大値を意味する。

$$RSD_{max} = \frac{KB\sqrt{n}}{t_{90\%, n-1}}$$

ここで、Kは、常数(0.349)であり、式 $K = \frac{0.5}{\sqrt{2}} \times \frac{1}{\sqrt{6}}$ から求められる。なお、 $\frac{0.5}{\sqrt{2}}$ はB=1.0で6回繰り返し注入を行ったときに許容されるRSDの最大値を示す。Bは、各条に規定された含量規格の上限値-100(%)であり、nは、標準溶液の繰り返し注入の回数(3 ≤ n ≤ 6)である。また、 $t_{90\%, n-1}$ は、自由度n-1、90%信頼限界(両側)におけ

るスチューデントのtの値を表す。

## (2) システム適合性

### ① システム適合性試験の位置付け

この項の冒頭に「システム適合性試験は、(クロマトグラフィーを用いた)試験法の不可欠の一部であり、クロマトグラフィーシステムの性能が適切であることを検証するのに使われる。カラム効率、質量分配比、分離度、相対保持時間およびシメトリー係数は、カラムの性能を評価するのに通常用いられるパラメータである。」と記載されている。

後段の記載において、分離度をカラムの性能を評価するのに通常用いられるパラメータと位置付けているのに、システム適合性試験におけるEPの評価要求項目の中には入れられていない(2.(2)②項参照)。USPや日局が評価要求項目としている分離度を、EPが評価要求項目としていない理由は筆者にはまだよく理解できていない。

### ② EPの評価要求項目

表1に示したように、現行のEP 6.0 ed.では、評価要求項目として、Symmetry factor(シメトリー係数)、定量法におけるRepeatability(繰り返し注入の再現性)、

医薬品製造設備の製造・販売、関連バリデーション業務をクリエイト

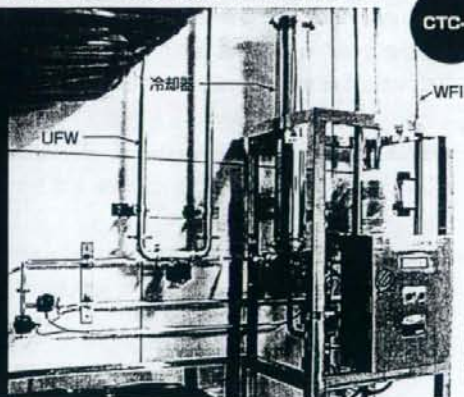
# ユースポイント冷却器

小型で設置場所を取らないコイル式で多管の2パス方式(2重管)、高効率の冷却器です。

【仕様概要】	蒸留水(WFI)	85℃-60℃~15℃(10℃)
	冷媒(冷却水又はチラー水)	32℃-40℃ 20℃-30℃ 7℃-12℃(5℃-10℃)

【機種】	CTC-3	【処理量】 0.3~0.6m <sup>3</sup> /h
	CTC-4	0.3~1.0m <sup>3</sup> /h
	CTC-6	0.6~2.0m <sup>3</sup> /h
	CTC-8	0.6~2.5m <sup>3</sup> /h
	CTC-10	1.0~3.0m <sup>3</sup> /h
	CTC-12	1.5~3.5m <sup>3</sup> /h
	CTC-14	2.0~4.0m <sup>3</sup> /h
	CTC-16	2.5~4.5m <sup>3</sup> /h
	CTC-18	3.0~5.0m <sup>3</sup> /h

ピュアスチーム発生装置	100kg/h~2,000kg/h
注射用蒸留水製造装置	0.5m <sup>3</sup> /h~10m <sup>3</sup> /h
大容量冷却器	5m <sup>3</sup> /h~20m <sup>3</sup> /h
サニタリーバルブ	ダイヤフラムバルブ・逆止弁・ボールバルブ・ブリザーバルブ



**クリーンメカニカル株式会社**

本社・工場 〒793-0046 愛媛県西条市港新地100番地の1  
TEL 0897-58-3611 FAX 0897-58-3612  
大阪営業所 〒532-0011 大阪市淀川区西中島4-4-11  
(お隣いかわ社) TEL 06-4805-6077 FAX 06-4805-6088  
URL <http://www.clean-m.com/>

DM資料請求カードNo.14

表1 EPにおけるシステム適合性試験の評価要求項目

現行(EP 6.0 ed.)	改正案
シメトリー係数	シメトリー係数
繰り返し注入の再現性 (定量法のみ)	繰り返し注入の再現性 (定量法&類縁物質試験)
検出限界(純度試験のみ)	—
定量限界(純度試験のみ)	定量限界(純度試験のみ)

ならびに類縁物質試験におけるLimit of detection(検出限界)および Limit of quantitation(定量限界)をあげているが、現在検討中の2.2.46. Chromatographic Separation Techniques改正案においては、検出限界が削除される一方で、類縁物質試験におけるRepeatability(繰り返し注入の再現性)が追加される見込みである。

以下に各評価要求項目に関する記載内容について解説する。

- (i) シメトリー係数 — 定量を行う場合、標準溶液から得られるクロマトグラムのピークのシメトリー係数は、他に規定するもののほか、0.8~1.5とすること。
- (ii) 類縁物質試験における繰り返し注入の再現性 — 類縁物質の定量を行う場合、標準溶液を繰り返し注入したときのレスポンス(ピーク面積あるいはピーク高さ)の標準偏差は下記のようにすること。  
— 対象とする類縁物質の濃度が試料溶液の被検成分の濃度の0.2%を超える場合: 5.0%以下  
— 対象とする類縁物質の濃度が試料溶液の被検成分の濃度の0.2%以下の場合: 10.0%以下
- (iii) 定量法における繰り返し注入の再現性 — 定量法においては、標準溶液を繰り返し注入したときのレスポンス(ピーク面積あるいはピーク高さ)の標準偏差はTable 2.2.46.-1に示したMaximum permitted relative standard deviation(RSD<sub>max</sub>)の値を超えないこと。
- (iv) 類縁物質試験における定量限界 — 試験の対象となる類縁物質の定量限界は、類縁物質試験のdisre-

Table 2.2.46.-1 Repeatability requirements

B(per cent)	Number of individual injections			
	3	4	5	6
2.0	0.41	0.59	0.73	0.85
2.5	0.52	0.74	0.92	1.06
3.0	0.62	0.89	1.10	1.27

gard limit(それ以下ではピーク面積を無視してよいとされる限度のことで、一般に0.05%とされる)以下であること。

EPが上記の(ii)と(iii)で類縁物質試験および定量法における繰り返し注入の再現性の許容限度値としてあげている値の設定根拠については、筆者にはまだよく理解できていないため、紹介するにとどめておくこととしたい。

### ③繰り返し注入の再現性を確認する方法について

「システム適合性の要件への適合性は、クロマトグラフィーを用いた試験が続けられる間ずっと維持される必要がある。その試験法の使用頻度、そのクロマトグラフィーシステムの使用経験といったような種々の因子を考慮に入れて、分析者はシステム適合性用溶液を注入する適切な方法、例えば、試験を始めるときに行うとか、試験中に(も)行うとか、を選択する。」と、1.(4)③項で紹介したUSPの記載とほぼ同じ内容が記載されている。

## 3. 日米EU三極間における試験結果の信頼性に関する考え方の違いについて

### (1)日米欧3薬局方間における「システム適合性」の評価要求項目の違い

日米欧3薬局方の「システム適合性」の評価要求項目を表2にまとめた。表2からわかるように、3薬局方間

表2 日米欧3薬局方間での「システム適合性」の評価要求項目の比較

何を評価するか	USP31	EP改正案	JP15第1追加
特異性	分離度 (カラム効率)	—	システムの性能* [分離度, 溶出順] (理論段数, シメトリー係数)
	テリング係数	シメトリー係数	
精度	繰り返し注入の再現性	繰り返し注入の再現性	システムの再現性
レスポンスの数値的信頼性	—	定量限界 (純度試験のみ)	検出の確認 (純度試験のみ)

\* JPでは、システムの性能は、原則として分離度(と溶出順)で規定するが、適切な分離確認用物質がない場合には理論段数やシメトリー係数で規定してもよいとされている。また、溶出順については、JP15第1追加におけるHPLC/GC法の改正で、定量法では必須としないこととされた。

には要求項目に大きな違いが存在する。

このように、日米欧3薬局間には「システム適合性」の評価要求項目に大きな違いが存在することは確かである。この点についても調和が達成されて、同じ項目の評価が要求されることになるのは望ましいことではあるが、調和の達成にはかなりのエネルギーが必要と考えられるので、どうすべきかよく吟味したうえで取りかかる必要がある。

①分析法バリデーションとも関連付けて考えたとき、この違いは国際調和を阻害する要因となるものであろうか？

日米欧3薬局間での各条の調和において、互いにこの違いにこだわるのであれば、調和が阻害されることになる。しかしながら、Part 1<sup>1)</sup>でも述べたように、試験結果の信頼性確保のうえでは、「分析法バリデーション」あるいは「試験法適用時の検証」がきちんとなされていることこそが重要である。日米欧3薬局方のいずれにおいても、各条品目を記載する際には、その各条に規定される試験方法が標準試験法としてふさわしいものであることを、分析法バリデーションのデータから確認している。

システム適合性試験の目的が、「分析法バリデーション」あるいは「試験法適用時の検証」がきちんとなされていることを前提として、分析システムの性能が実際の試験時にも維持されていることを確認することであることを考えれば、必ずしもこの違いにこだわる必要はないと考えられる。標準試験法としての分析法バリデーションがなされた試験方法であれば、日常的な分析システムの性能チェックの役割をもつシステム適合性の試験は、性能を評価するうえで特に重要な特異性や精度等を含む適切な項目さえ選ばれていれば、いろいろな形で行われるものと考えられる。

したがって、分析法バリデーションに関する三極の規定さえ共通であれば、それを前提として行われるシステム適合性(試験)については、ポイントとなる点さえおさえられていれば、日米欧3薬局間に違いがあってもそれぞれ独自のシステム適合性(試験)の要求を行うことを認め合うことでよいと考えられる。

②とはいえ、可能なところから日米欧3薬局間の違いを取り除いていくことも大切である。

そのためには、3薬局方の専門家が集まって、分析法バリデーション、システム適合性(試験)、分析機器の適

格性評価などのコンセプトを含めて、試験結果の信頼性確保の考え方について話し合う機会をもつことから始めたらどうだろうか？

例えば、1.(4)②項と2.(2)②項で紹介した繰り返し注入の再現性の許容限度値の設定根拠については、USPとEPからよく説明してもらいたいことの1つである。

## (2)日米EUの間の分析法バリデーション、特に室内再現精度の評価法をめぐる解釈の違い

「分析法バリデーション」に関しては、6年前の解説記事<sup>2)</sup>の末尾に記載した欧米とわが国との間の室内再現精度の評価法をめぐる解釈の違い(わが国における要求:室内再現条件を少なくとも6つ以上設定し、それに各変動要因をラングマイズした形で割り付けて試験を行い、各条件間の試験結果のばらつきを求めて、用いた分析法の妥当性を評価する;「海外で認められた」方法:室内再現精度の評価を検定の問題ととらえ、変動要因のいずれも異なる2つの試験条件での試験結果の間に有意差がないことを以て、用いた分析法を適切と評価する。)が依然として残されたままであり、外資系の会社からは「日本の特殊な要求事項」との非難のレタターが貼られたままの状態である。6年前の記事<sup>2)</sup>を繰り返すことに

## 植物性 日本薬局方ステアリン酸マグネシウム



圧縮錠剤製造の  
潤滑剤に。

High Technology & Sincerity

Ⓣ 太平化学産業株式会社

本社 〒540-0039 大阪市中央区東高麗橋1-16 ☎06(6942)2515(代)  
支店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町4-5-14江ビル5F ☎03(3279)1021(代)  
営業所 〒460-0002 名古屋市中央区丸の内2-19-25Y丸の内ビル7F ☎052(232)1251(代)

DM資料請求カードNo.33



Part 3 USPおよびEPに規定された試験結果の信頼性確保に関する考え方

なるが、この非難は下記の理由から妥当なものとは思われない：

- ①わが国における要求は、ICHの評価方法のテキスト(Q2B)<sup>3)</sup>に「添付資料に、各タイプの精度ごとに、標準偏差、相対標準偏差(変動係数)および標準偏差の信頼区間を記載する(The standard deviation, relative standard deviation (coefficient of variation) and confidence interval should be reported for each type of precision investigated.)」と規定されていることに基づいたものであり、標準的なやり方としては、このICHテキストに沿って、室内再現精度についても、併行精度と同様、その大きさを求めて、その妥当性から分析法の適否を評価する必要があると考えられるためである。この要求に対して、科学的な論拠に基づいて反論を行ったケースは現在に至るまで見当たらない。
- ②海外で認められたものであるから、日本においてもそのまま認めるべきであるとし、日本で欧米での審査と違った要求を受けたことを不当なものとしている点についても妥当なものとは思われない。外資系の会社の場合、新薬の承認申請がまず欧米で行われ、その後で日本でも承認申請が行われることから、日本における審査当局のコメントは、どうしても追加の要求といった形になり、欧米ですでに認められているのに、またごちゃごちゃと言われて敵わないといった受け取り方がなされているように思われる。どの時点での承認審査であろうとも、科学的妥当性をベースに行われるべきであり、日本における要求を不当と感じるならば、当局側を納得させるだけの科学的な論拠を示して理解を求めべきである。その努力を十分に行っていないのに、「海外で認められたものだから、日本でも認められるべきだ。」と主張するのは、欧米での審査に不当に重きを置くものと言わざるを得ない。

この室内再現精度をめぐる問題は、併行精度については、その評価方法がICHの評価方法のテキスト(Q2B)<sup>3)</sup>に詳しく記載されているのに、新薬の規格および試験方法においてより重要な室内再現精度については、その評価方法がテキストには明確に記載されていないことに起因していると考えられる。必要があれば、ICHの課題として取り上げて調和を図るべき事項であろう。

おわりに

本稿は、「医薬品の品質試験結果の信頼性確保のために」のタイトルで前々号から3回にわたって連載してきた解説記事のPart 3(最終回)である。

- Part 1 日局15第2追補に収載予定の参考情報「システム適合性」に記載された試験結果の信頼性確保に関する考え方(前々号掲載済み)
- Part 2 日局15第1追補でHPLC/GC法に追加された「システム適合性」の規定について(前号掲載済み)
- Part 3 USPおよびEPに規定された試験結果の信頼性確保に関する考え方

この解説記事が医薬品の品質試験結果の信頼性確保の考え方について理解していただく一助となれば幸いである。

引用文献

- 1) 小嶋茂雄：医薬品の品質試験結果の信頼性確保のために Part 1 日局15第2追補に収載予定の参考情報「システム適合性」に記載された試験結果の信頼性確保に関する考え方、PHARM TECH JAPAN, 24, 1051-1059(2008)
- 2) 厚生省薬務局審査課長通知「分析法バリデーションに関するテキストについて」、平成7年7月20日付薬審第755号
- 3) 厚生省医薬安全局審査管理課長通知「分析法バリデーションに関するテキスト(実施方法)について」、平成9年10月28日付薬審第338号
- 4) 小嶋茂雄：医薬品の品質試験結果の信頼性確保のために Part 2 日局15第1追補でHPLC/GC法に追加された「システム適合性」の規定について、PHARM TECH JAPAN, 24, 1209-1219(2008)
- 5) 鹿庭なほ子：医薬品の分析法バリデーション、林純薬工業(大阪)(2003)、P.101
- 6) E. Kristensen, M. Varney: Quantitative Chromatography and System Suitability Replication Requirements, *Pharmacopoeial Forum*, 23, 4952-4957(1997)
- 7) EP, *Pharmeuropa*, 18, 410-416(2006)
- 8) 小嶋茂雄：分析法バリデーション、特に室内再現精度の評価について-新薬承認申請資料における記載から-, PHARM TECH JAPAN, 18, 695-704(2002)

## 液体クロマトグラフィー並びにガスクロマトグラフィーの改正 —システム適合性に関する規定の整備—\*

小 嶋 茂 雄\*

### 1. HPLC 法/GC 法の表記法の変更

日局 14 において医薬品各条の液体クロマトグラフィー及びガスクロマトグラフィー (HPLC/GC 法) の表記法が変更されました。

旧い表記法では Table 1 の左側に示した項目を操作条件として規定することとされていましたが、新しい表記法ではこれらの項目を試験条件とシステム適合性に分け、試験条件に該当する項目については変更を加えずにそのまま移行させましたが、システム適合性に該当する項目については、「検出感度」が「検出の確認」に、「カラムの選定」が「システムの性能」に、また、「試験の再現性」が「システムの再現性」に変更されました。

### 2. 設定の具体例

システム適合性の設定例を Table 2 に示しました。

ベントバルビタールカルシウムの定量法の場合には、システムの性能とシステムの再現性が規定されています。システムの性能では、溶出順と分離度が適合要件を満たしていることを確認します。また、システムの再現性では、6 回の繰り返し注入におけるレスポンスの相対標準偏差が適合要件 (この場合は、1.0%以下) を満たしていることを確認します。

アフロクアロンの類縁物質試験では、これらに加えて検出の確認が規定されており、規格限度値レベルの濃度の溶液の被検成分のレスポンスが規定された範囲に入っていることを確認します。類縁物質試験では、定量法に比べて微量の物質を相手にするた

め、試験結果のバラツキは大きくなりますので、システムの再現性もそれに対応したレベルに設定します。例えば、この例では、システムの再現性の許容限度値を「5%以下」と設定しています。

### 3. 「システム適合性」を巡る問題点 (Table 3)

表記法の変更に伴い、新しい表記法への変更作業が行われましたが、日本薬局方 (日局) にシステム適合性の考え方が明確に示されないままであったため、各項目の設定に関する考え方が、人によってまちまちとなり、混乱が生じているように思われます。

「システム適合性」を巡っては、Table 3 に示すような多くの問題点が指摘されています。まず、第 1 点目は、システムが良好に稼働していることを確認するのに、日常的にどのような項目について評価する必要があるか、日米欧の 3 薬局方でかなりの違いがあることです。2 点目は、検出の確認の項目の必要性が問題とされています。3 点目は、システムの再現性について、例えば、グラジエント法を用いたものなど、1 回の試験に長時間を要する場合、6 回も繰り返して試験を行うのは困難との意見があることです。4 点目は、システムの再現性の繰り返し回数は 5 回か 6 回かの問題、5 点目は、システムの再現性において、どのくらいの許容限度値を適合要件として設定すべきかの問題、6 点目は、システムの性能について、溶出順の規定が必須かどうかの問題です。

\* 独立行政法人医薬品医療機器総合機構 東京都千代田区霞が関 3-3-2 (〒100-0013)

\*\* 当協会主催の第 1 回日本薬局方説明会 (平成 19 年 11 月 27 日: 大阪, 12 月 3 日: 東京) における講演による。

Table 1 日局 14 における HPLC/GC 法の表記法の変更

旧表記法：	新表記法：
操作条件	試験条件
検出器	検出器
カラム	カラム
カラム温度	カラム温度
移動相	移動相
液量	液量
	システム適合性
検出感度	検出の確認
カラムの選定	システムの性能
試験の再現性	システムの再現性

#### 4. 日米欧 3 薬局方の「システム適合性」に関する規定における評価要求項目の比較 (Table 4)

日局では、システムの性能で特異性を、システムの再現性で精度を、また、検出の確認で（感度と）レスポンスの数値的信頼性を確認していますが、「システム適合性」において評価を要求される項目は、日米欧 3 薬局方間で大きく異なります。

特異性に関する項目としては、USP では分離度とテーリング係数の評価を求めています、EP で

は分離度は要求項目に入っておらず、シンメトリー係数の評価でよいとしています。日局では、「システムの性能」として分離度と溶出順の評価を求めてきており、場合によっては理論段数とシンメトリー係数でもよいとしてきました。このうち、溶出順については、日局 15 第一追補における HPLC/GC 法の改正でのシステム適合性の規定の追加に伴い、設定を必須としない項目に変更されました。

精度に関する項目としては、3 薬局方ともに繰り返し注入におけるバラツキの評価を求めており、規定の中身は異なるにしても、いずれも分析システムの性能を維持する上での中心的な評価項目と位置付けています。

（感度と）レスポンスの数値的信頼性に関する項目としては、USP では何も要求していませんが、EP は定量限界の、日局は「検出の確認」の評価を求めています。

#### 5. 日局 15 第一追補で HPLC/GC 法に追加された「システム適合性」の規定の位置付けに関して

前述したように、日局 15 第一追補で HPLC/GC 法が改正され、「システム適合性」の規定が追加さ

Table 2 システム適合性の設定例

1) ベントバルピタールカルシウムの定量法
● システム適合性
- システムの性能：標準溶液 20 $\mu$ L につき、上記の条件で操作するとき、ベントバルピタール、内標準物質（パラオキシ安息香酸イソプロピル）の順に溶出し、その分離度は 5 以上である。
- システムの再現性：標準溶液 20 $\mu$ L につき、上記の条件で試験を 6 回繰り返すとき、内標準物質のピーク面積に対するベントバルピタールのピーク面積の比の相対標準偏差は 1.0% 以下である。
2) アフロクアロンの類縁物質試験
● システム適合性
- 検出の確認：標準溶液 5mL を正確に量り、移動相を加えて正確に 25mL とする。この液 20 $\mu$ L から得たアフロクアロンのピーク面積が、標準溶液のアフロクアロンのピーク面積の 15~25% になることを確認する。
- システムの性能：本品 0.01g を移動相に溶かし、パラオキシ安息香酸プロピルの移動相溶液（1 $\rightarrow$ 2000）5mL を加えた後、移動相を加えて 100mL とする。この液 20 $\mu$ L につき、上記の条件で操作するとき、アフロクアロン、パラオキシ安息香酸プロピルの順に溶出し、その分離度は 4 以上である。
- システムの再現性：標準溶液 20 $\mu$ L につき、上記の条件で試験を 6 回繰り返すとき、アフロクアロンのピーク面積の相対標準偏差は 5% 以下である。

Table 3 「システム適合性」の設定を巡る問題点

- システムが良好に稼働しているのを確認するのに、日常的にどのような項目について評価する必要があるか？（日米欧3薬局方に違い）
- 検出の確認の項目の必要性？
- グラディエント法を用いたものなど、1回の試験に長い時間を要する試験の場合のシステムの再現性の規定？
- システムの再現性の試験の繰り返し回数は、5回か6回か？
- システムの再現性の適合要件として、どの程度の相対標準偏差を設定すべきか？
- システムの性能において、溶出順の設定は必須とすべきか？

れました。この「システム適合性」の規定の整備については、理化学試験法委員会が担当して検討を続けてきました。

規定の策定にあたっては、Table 3に示した問題点、USPやEPに収載された試験結果の信頼性確保に関する種々の規定、並びに日局参考情報の「分析法バリデーション」の規定などを踏まえ、医薬品の品質試験結果の信頼性を確保する上で、「分析法バリデーション」や「システム適合性」などのコンセプトをどのように位置付けるべきかを考えました。

このように、今回の規定は、試験結果の信頼性確保という全体の枠組みの中で、「システム適合性」がどのような役割を果たすべきかといった観点から

策定したものであることを最初に述べておきたいと思えます。

#### 8. 「システム適合性」の規定の日局への収載 (Table 5)

当初の段階では、もう少し狭い視野から、HPLC/GC法の中にクロマトグラフィーにおけるシステム適合性の規定をどのように盛り込むかを検討しました。それは、HPLC/GC法は、医薬品の分野で汎用されている試験法であるにもかかわらず、変動要因が多いため、システム適合性の規定を設けてシステムの信頼性を日常的にチェックする必要性の特に高い試験法であるためです。

審議を進めた結果、最終的には、参考情報に「システム適合性」の一般的な規定を設けるとともに、HPLC/GC法にクロマトグラフィーに特化した「システム適合性」の規定を追加することになりました。

この「システム適合性」の規定を追加して改正されたHPLC/GC法は、既に日局15第一追補に収載されています。また、参考情報の「システム適合性」の一般的な規定は、第二追補に収載される予定であり、これら2つの規定により日局の「システム適合性」に関する考え方が示されることになります。

Table 4 日米欧3薬局方の「システム適合性」に関する規定における評価要求項目の比較

何を評価するか	USP	EP	JP15第1追補
特異性	分離度	—	システムの性能* (分離度, 溶出順) (理論段数)
	テーリング係数	シンメトリー係数	(シンメトリー係数)
精度	繰り返し注入の再現性	繰り返し注入の再現性	システムの再現性
レスポンスの数値的信頼性	—	定量限界 (純度試験のみ)	検出の確認 (純度試験のみ)

\*: JPでは、システムの性能は、原則として分離度(と溶出順)で規定するが、適切な分離確認用物質がない場合には理論段数やシンメトリー係数で規定しても良いとされている。また、溶出順については、JP15第1追補におけるHPLC/GC法の改正で、定量法では必須としないこととされた。

Table 5 「システム適合性」の規定を  
どのように記載するか？

- 理化学試験法委員会での検討の当初の段階では、クロマトグラフィーにおける「システム適合性」の規定を HPLC/GC 法にどのように設定するかが検討された。
  - HPLC/GC 法には、変動要因が多く、「システム適合性」の規定を設けて試験結果の信頼性を日常的にチェックする必要性の高い試験法であること。こうしたことから、日局 14 以来、医薬品各条の HPLC/GC 法を用いた試験法に「システム適合性」を設定することが求められていたこと。
- 最終的には、次の 2 つの形で記載することとされた。
  1. クロマトグラフィーに特化した形の「システム適合性」に関する規定を HPLC/GC 法に追加する（→日局 15 第 1 追補に記載）。
  2. 一般的な形で「システム適合性」の規定を参考情報に設ける（→日局 15 第 2 追補に記載予定）。

#### 7. 日局 15 第一追補における HPLC/GC 法の改正点

日局 15 第一追補での HPLC/GC 法改正のポイントは、「システム適合性」を規定したことに尽きるといえるでしょう。その他には、「S/N 比」や「ピークバレー比」を用語の定義に追加するとともに、必要な記載の整備を行っています。

#### 8. HPLC/GC 法に記載された「システム適合性」の規定

##### 8.1 まえがき (Table 6)

HPLC/GC 法に追加されたシステム適合性の規

定の冒頭には、「システム適合性は、クロマトグラフィーによる分析法には不可欠の項目であり、医薬品の試験に使用するシステムが、当該の試験を行うのに適切な性能で稼働していることを一連の品質試験ごとに確かめることを目的としている。」と記載されています。

更に「システム適合性の試験方法と適合要件は、医薬品の品質規格に設定した試験法の中に規定されている必要がある。規定された適合要件を満たさない場合には、そのシステムを用いて行った品質試験の結果を採用してはならない。」と記載されています。

「システム適合性」は、定量法については「システムの性能」及び「システムの再現性」で評価されますが、純度試験については、これらに「検出の確認」を加えた 3 つの項目で評価されます。

##### 8.2 「システム適合性」の各項目の設定の意義 (Table 7)

「検出の確認」は、純度試験において、対象とする不純物等のピークがその規格限度値レベルの濃度で確実に検出されることを確認することにより、使用するシステムが試験の目的を達成するために必要な性能を備えていることを検証します。

「システムの性能」は特異性の確認です。つまり、被検成分に対する特異性が担保されていることを確認することにより、使用するシステムが試験の目的を達成するために必要な性能を備えていることを検証します。

「システムの再現性」は、標準溶液あるいはシステム適合性試験用溶液を繰り返し注入したときの被検成分のレスポンスのばらつき（精度）が試

Table 6 HPLC/GC 法に記載された「システム適合性」の規定\*

- 「システム適合性は、クロマトグラフィーを用いた試験法には不可欠の項目であり、医薬品の試験に使用するシステムが、当該の試験を行うのに適切な性能で稼働していることを一連の品質試験ごとに確かめることを目的としている。
- システム適合性の試験方法と適合要件は、医薬品の品質規格に設定した試験法の中に規定されている必要がある。
  - 規定された適合要件を満たさない場合には、そのシステムを用いて行った品質試験の結果を採用してはならない。
  - システム適合性は、基本的に「システムの性能」及び「システムの再現性」で評価されるが、純度試験においてはこれらに加えて「検出の確認」が求められる場合がある。」

(\*: 日局 15 第 2 追補に記載予定の HPLC/GC 法改正案の記載)

Table 7 「システム適合性」の各項目の設定の意義

検出の確認：純度試験において、対象とする不純物等のピークがその規格限度値レベルの濃度で確実に検出されることを確認することによって、使用するシステムが試験の目的を達成するために必要な性能を備えていることを検証する。

システムの性能：被検成分に対する特異性が担保されていることを確認することによって、使用するシステムが試験の目的を達成するために必要な性能を備えていることを検証する。

システムの再現性：標準溶液あるいはシステム適合性試験用溶液を繰り返し注入したときの被検成分のレスポンスのばらつき（精度）が試験の目的に合うレベルにあることを確認することによって、使用するシステムが試験の目的を達成するために必要な性能を備えていることを検証する。

験の目的に合うレベルにあることを確認することにより、使用するシステムが試験の目的を達成するために必要な性能を備えていることを検証します。

### 8.3 「検出の確認」の試験方法と適合要件 (Table 8)

「検出の確認」は、純度試験のうち、定量的な試験で設定が求められ、HPLC/GCを用いた分析システムの（感度と）レスポンスの数値的信頼性を確認するための項目です。

ただし、限度試験の場合や限度値レベルでの検出が「システムの再現性」等の項目で確認できる場合は「検出の確認」の項を設定する必要はないとしています。

#### 8.4 「検出の確認」の項目の必要性？

「検出の確認」は、USPやEPでは要求していない項目であるため、設定の意義を問う声があります。USPに対応する項目がないのは確かですが、EPでは「定量限界」が要求項目とされています。

EPが設定を求めている「定量限界」や、日局が日局14まで設定を求めている「検出感度」（これは分析法バリデーションにおける「検出限界」に相当する）は、基本的には分析法バリデーションにおいて評価されるパラメータであり、分析システムに変更がない限り、日常的に確認する必要はないと考えられます。

また、「定量限界」は、それ以上の濃度では、ノ

Table 8 「検出の確認」の試験方法と適合要件

- 純度試験のうち、定量的な試験で設定が求められる。
- HPLC/GC法を用いた分析システムのレスポンスの数値的信頼性を確認するための項目である。
- 「定量的試験では、通常、「検出の確認」の項を設け、規格限度値レベルの溶液を注入したときのレスポンスの幅を規定して、限度値付近でレスポンスが直線性をもつことを示す。」
- 「検出の確認」の項を設定しなくてもよい場合
  - 「限度試験のように、規格限度値と同じ濃度の標準溶液を用いて、それとの比較で試験を行う場合」
  - 「限度値レベルでの検出が「システムの再現性」などで確認できる場合」

イズの影響を受けない信頼性のある数値が求められることを示す分析能パラメータですが、その評価だけでは、定量的な試験において求められる直線性について評価したことはなりません。

「検出の確認」は、類縁物質の規格限度値レベルの濃度の溶液を注入したときに、規定された範囲に入るレスポンスを示すこと（例えば、Table 2のアフロクアロンの類縁物質試験における「検出の確認」の規定のように、標準溶液の20%に希釈した液のレスポンスが、標準溶液のレスポンスの15~25%（20%を中心とした範囲）に入ることを確認することによって、限度値付近の濃度においてレスポンスがおおまかな直線性を有していることを検証しようとするものです。

このように、「検出の確認」は、定量的な純度試験において、得られる定量値が信頼性のあるものであることを日常的に簡便な形で確認するのに有効な評価項目と思われます。

### 9. 「システムの性能」、特に溶出順の規定について

次に、特異性に関わる評価項目である「システムの性能」について、特に溶出順に注目して説明します。

#### 9.1 溶出順を巡る日局委員会での議論と理化学試験法委員会の対応 (Table 9, 10)

理化学試験法委員会において検討された改正案のVer. 6では、溶出順と分離度の両方を規定すること

Table 9 溶出順の規定は必須か? (1)

- 改正案 (Ver.6) における「システムの性能」の規定  
「原則として、分離対象物質（基本的には、隣接するピークが望ましい）との溶出順と分離度で規定する。」
- この案に対する日局委員からの意見
    - 溶出順については再考の必要がある。溶出順の規定のために性能のよい新しいカラムが使用できない例は多く見受けられる。かつては ODS カラムのエンドキャッピングが甘く、塩基性薬物は溶出が遅くかつテーリングがひどかったため、イオンペア試薬を入れて内標準物質との分離度を改善せざるを得なかった。最新のカラムはエンドキャッピングがしっかりされており、塩基性薬物でもテーリングせずかつ理論段数も格段に良くなっている。
    - 新しいカラムでは塩基性薬物の溶出が速くなったのに対して、内標準物質の溶出は変わらないため、昔のカラムを基に決められた溶出順が新しいカラムでは逆転してしまっており、試験に使うことができない。
    - 会社などでは、仕方なく、エンドキャッピングが甘く、理論段数の低い（古い）カラムをメーカーに無理を言って確保してもらっているとのことである。
  - 改正案 (Ver.7) では、定量法では溶出順の規定を必須としないこととし、システムの性能の規定を次のように改めた：  
「原則として、分離対象物質（基本的には、隣接するピークが望ましい）との分離度で規定する。純度試験では、分離対象物質との溶出順を併せて規定する。」
  - この案に対する別の日局委員からの意見
    - 規格及び試験方法の設定での各種バリデーションは使用するカラムの性能を規定した上で実施しており、そのときの実測値を考慮してシステム適合性を規定している。しかしながら、序文に「当該医薬品の規格が設定されたときと同様に」の記載があるにもかかわらず、今回の改定案では、実際にバリデーションを行ったときと異なる条件、すなわち、内標準物質と測定成分の溶出順が異なることも許容することになる。溶出順序が異なるシステムで試験を行うことは、再バリデーションの必要な範疇であり、科学的におかしい。
  - 結局、溶出順の規定に関しては、「必須とすべきでない」と「必須とすべきである」との正反対の意見が出されたことになる。

とされてきました。ところが、Ver.6案について日本薬局方内で各条担当の委員会に意見を求めたところ、ある委員から、古い各条品目では、溶出順の規定のために、性能の良い新しいカラムが使用できない例がかなりあるとの意見が出されました。

かなり前に当該の品目が日局に収載された際には、ODS カラムのエンドキャッピングが甘く、塩基性薬物は溶出が遅くかつテーリングがひどかったため、イオンペア試薬を入れて内標準物質との分離を改善するようなことが行われていました。

ところが、最近の新しいカラムは、エンドキャッピングがしっかりされており、塩基性薬物でもテーリングせずに溶出するようになりました。内標準物質の溶出は変わらずに、塩基性薬物の溶出が速くなったために、古いカラムを基に決められていた溶出順が新しいカラムでは逆転してしまい、試験に使うことができないというようなことが起こっています。そこで、会社ではわざわざエンドキャッピングの甘いカラムをメーカーに無理をいって作らせて対応し

ており、このような状況は改善すべきであるということでした。

そこで、Ver.7案では、定量法では溶出順の規定はしなくてもよいとしたところ、別の委員から、溶出順を規定することによって試験法の信頼性が守られており、溶出順が変わるようなことがあれば、再バリデーションが必要と考えられるので、溶出順を要求項目から外してしまうのはおかしいとの意見が出されました。

このように、溶出順の設定に関しては、必須とすべきではないとの意見と必須とすべきとの正反対の意見が出されるという事態が生じました。

このため、理化学試験法委員会でも更に検討を進めた結果、Table 10 に示すように、カラムの交換の前後で分析システムが同等の試験結果を与えるかどうかは、「分析システム変更時の管理」によって担保すべき問題であり、それを丸ごとシステムの性能が維持されているかどうかを日常的に確認する試験である「システム適合性」に持ち込むべきではない

Table 10 溶出順の規定は必須か？ (2)

Table 9 に示した意見に対しては、次のように考えられる。

- I) 分析システム変更時の管理で担保すべき問題を、丸ごとシステム適合性試験に持ち込んでいるのではないか？
- 新しいカラムが当該試験に使えるかどうかのチェックは、医薬品の品質試験における分析システム変更時の管理の一環として、そのカラムの導入前に行っておくべきことである。
  - 新しいカラムを用いてシステム適合性の試験を実施し、それまで使っていたカラムと同様の結果を与えることが確認されれば、そのカラムを用いて品質試験を行ってよい。
  - 新しいカラムによって分離度が大きく変わる、溶出順が異なるなどの溶出パターンの変化がもたらされるのであれば、特異性、真度、精度などが担保されているかどうか懸念されるので、再バリデーションを行って、そのカラムを品質試験に用いることが適切かどうか検討する必要がある。
- ▶ カラムの導入前に上記のような作業が行われるのを前提とすれば、定量法の場合、システムの性能に溶出順の規定する必要があるケースが多いと考えられる。
- II) 分離度に関する考察
- 分離度は、「○○○と△△△の分離度は#以上である。」のように規定される。カラムを例にとってこの規定について考察する。
    - カラムを試験に使い続けると、次第に劣化して分離能が悪く（分離度が小さく）なっていく。
    - また、カラムの交換では、次の3つのケースが起こりうる。
      - 1) 交換前と比べて、分離度がほとんど変わらない場合
      - 2) 分離度が小さくなる場合（-の方向への変化）
      - 3) 分離度が大きくなる場合（+の方向への変化）
  - 1) は、特に問題はない。
  - 2) と 3) では、特異性の確保の観点からは 2) の方が問題であることから、分離能の悪い性能の良いカラムや劣化してピークの分離が悪くなったカラムなど、特異性の担保が危ぶまれるカラムが試験に使われるのを防ぐために、「分離度#以上」との規定が設けられる。
  - では、3) の交換前に比べて分離度が大きくなる場合はどう考えればよいのであろうか？例えば、「分離度は3以上」と規定されているときに、交換前に3.5であった分離度が交換後に7となった場合、何らの検証も行わずにこのカラムを使って試験を続けても良いか？
    - 「分離度は3以上」との要件に適合しているので、特異性は担保されていると言える。
    - しかしながら、分離度がこれまでの倍になるような大きな溶出パターンの変化が分析システムに起きていることから、特異性以外の分析システムの性能である真度や精度が変更前と同じレベルに維持されているかどうか懸念される。したがって、分析結果の信頼性を確保する立場から見ると、何のチェックも行わずにこのカラムを使って試験を続けて良いとは言えない。
- ▶ 分析システム変更時にはその適切性を評価し管理すべきであるとの観点からは、分離度が+の方向へ大きく変化する場合についても、このカラムを当該試験に用いることが適切かどうかを再バリデーションを行って検証する必要がある。
- 溶出順が逆転するケースについて
    - 溶出順の逆転は、分離度の符号が一侧に転じたケース（下記の分離度の式で  $t_{R2} > t_{R1}$  とされる2つのピークの保持時間が逆転して  $t_{R2} < t_{R1}$  となってしまったケース）と位置づけられる。
 
$$R_s = 1.18 \times \frac{t_{R2} - t_{R1}}{W_{0.5R1} + W_{0.5R2}} \quad (t_{R2} > t_{R1} \text{ とする})$$
    - この場合、溶出順が逆転するような大きな変化が分析システムに起きており、特異性、真度、精度などの分析システムの性能が試験の目的に合うレベルに達しているかどうか懸念されるため、このカラムの使用に当たっては、このカラムを当該試験に用いることが適切かどうかを再バリデーションを行って検証する必要がある。
- ▶ このように分析システム変更時の管理を行うとともに、分離度の規定を活用することによって、溶出順の規定を必須としなくても分析結果の信頼性を確保することは可能と考えられる。



との判断に至りました。

すなわち、新しいカラムが当該の試験に使えるかどうかのチェックは、品質試験における「分析システム変更時の管理」の一環として、そのカラムの導入前に行っておくべきことと考えられます。新しいカラムを用いてシステム適合性の試験（他に必要と考えられる試験がある場合には、その試験も）を行い、それまで使っていたカラムと同等の結果を与えることが確認できれば、そのカラムを品質試験に使っても問題ないといえるでしょう。しかしながら、分離度が大きく変わる、溶出順が異なるなどの溶出パターンの変化がもたらされるのであれば、特異性、真度、精度が担保されているかどうか懸念されますので、必要な項目について再バリデーションを行って、そのカラムを当該の品質試験に使用してよいかどうかを再検討する必要があります。

理化学試験法委員会では、新しいカラムの導入前に上記のような作業が行われることを前提とすれば、定量法の場合には溶出順を規定する必要がないケースが多いと結論付けました。

### 9.2 分離度に関する考察 (Table 10)

システムの性能においては、分離度を評価項目に設定することとされていますが、この分離度の規定から何が言えるかを、溶出順の規定との関連で考察してみました。

分離度は通常「○○○と△△△の分離度は#以上である。」のように規定されます。

カラムを使用し続けると、次第に劣化して分離能が悪く、つまり分離度が小さくなるのが一般的です。

また、カラムの交換では、1) 交換前後で分離度がほとんど変わらない場合、2) 交換後の分離度が交換前よりも小さくなる場合、3) 逆に交換前よりも大きくなる場合の3つのケースが考えられます。

1) は問題ありません。2) と3) では、特異性確保の観点からは、2) の方が問題となることから、分離能の悪いカラムや劣化して分離が悪くなったカラムなど、特異性の担保が危ぶまれるカラムが試験に使われるのを防ぐために、「分離度#以上」との規定が設けられます。

では、3) のケースは問題ないかといいますと、例えば、「分離度は3以上」と規定されているとき、交換前に3.5であった分離度が7になった場合に、

何の検証も行わずにこのカラムを使って品質試験を続けてもよいのでしょうか？

「分離度は3以上」の要件にも、溶出順の要件にも適合していますので、杓子定規に言えば、何も問題は無いといえるかもしれません。しかしながら、分離度がこれまでの倍になるような大きな溶出パターンの変化が分析システムに起こっているわけですから、分析システムが本当にカラムの交換前と同じ性能を有しているかどうか懸念されます。したがって、試験結果の信頼性を確保する立場からは、何のチェックも行わずにこのカラムを使って品質試験を続けてよいとはいえません。

以上の考察からは、カラムの交換によって分離度がプラスの方向へ大きく変化する場合についても、再バリデーションを行う必要があると考えられます。

更に、溶出順が逆転するケースについても、次のように考察されます。このケースは、Table 10に示した分離度の計算式において、 $t_{R2} > t_{R1}$ とされている2つのピークの保持時間が逆転して $t_{R2} < t_{R1}$ となってしまう、計算される分離度 $R_s$ が計算上マイナスになってしまうケースに相当します。

この場合、杓子定規に考えれば、「分離度#以上」(#はプラスの数値)と規定されているのに、マイナスとなってしまったのですから、このカラムの使用は不適切との判断を下すこともできるように思われます。

これに対して、特異性の確保という観点から考察すれば、マイナス側に転じたとしても絶対値として同じ数値以上であれば(すなわち、被検成分と分離確認物質との分離さえ十分であれば)、品質試験には使用可能ではないかと思われれます。

結局、この場合も、溶出順が逆転するような大きな変化が分析システムで起こっていることから、再バリデーションを行って、このカラムを試験に使ってよいかを検証することが適切だと思われれます。

このように、「分析システム変更時の管理」を行うとともに、分離度の規定を活用することによって、溶出順の規定を必須としなくても、分析結果の信頼性を確保することは可能と考えられます。USPが溶出順を要求していないのも、分離度を要求することと十分であるとの判断があるように思われれます。

### 9.3 理化学試験法委員会の結論 (Table 11)

理化学試験法委員会では、この問題について、最

Table 11 溶出順の規定は必須か？ (3)

日局理化学試験法委員会では、最終的に次の対応を取ることにした。

- 1) 日局に収載する HPLC/GC 法には、下記の 2) を前提として、システムの性能を次のように規定し、定量法の場合には溶出順の規定を必須のものとしなすこととする：

「定量法では、原則として、被検成分と分離確認用物質（基本的には、隣接するピークが望ましい）との分離度、及び必要な場合には、溶出順で規定する。純度試験では、原則として、被検成分と分離確認用物質（基本的には、隣接するピークが望ましい）との分離度及び溶出順で規定する。」

- 2) 参考情報収載予定の「システム適合性」に、分析システムの変更時には、当該の変更が適切なことを確認して、評価の尺度に狂いが生じないように管理する必要があるが、カラムの交換前のチェックにおいて溶出順が逆転するなど、溶出パターンが大きく変わる場合には、そのカラムを品質試験に用いることが適切かどうか再検証する必要がある旨を記載する。

最終的に Table 11 に示すような対応をとることとしました。

HPLC/GC 法に追加する規定については、参考情報へ収載予定の「システム適合性」の一般的規定に「分析システム変更時の管理」の規定を盛り込むことを前提として、定量法の場合には溶出順の設定を必須のものとしなすこととし、溶出順を規定した方がよいケースもあることを考慮して、「分離度、

及び必要な場合には、溶出順で規定する。」と記載することにしました。

Fig. 1 は、カラムを交換したときに取るべき措置を分離度に基づいて判断するときのイメージを示したものです。「システムの性能」に「分離度 3 以上」と規定されており、変更前のシステムでの分離度の実測値が  $n$  の場合を想定しています。分離度と溶出順の両者が規定されている場合には、変更後の分離度が 3 未満になってしまうと、マイナスとなった場合も含めてすべて不適と判断されることとなります。カラムの交換によって分離度が  $n$  よりかなり大きくなってしまふ場合は、規定の上では適となりますが、変更時の管理の観点からは再検証が必要と考えられます。これに対して、分離度のみが規定されている場合には、不適と明確に言える範囲は 3 ~ -3 の間です。-3 以下の領域については、上述のように不適とも考えられますし、被検成分と分離確認用物質との分離は十分と思われることから、不適としなくてもよいとも考えられます。いずれにせよ、このカラムの導入にあたっては、再検証が必要と考えられます。

#### 10. 「システムの再現性」を巡る問題点

「システムの再現性」については、Table 3 で示したように、グラジエント法を用いる場合や溶出の遅い成分を含む試料を分析する場合など、1 回の試験に長い時間を要する試験の場合の対応、試験の繰り返し回数や許容限度値をどのように設定するか

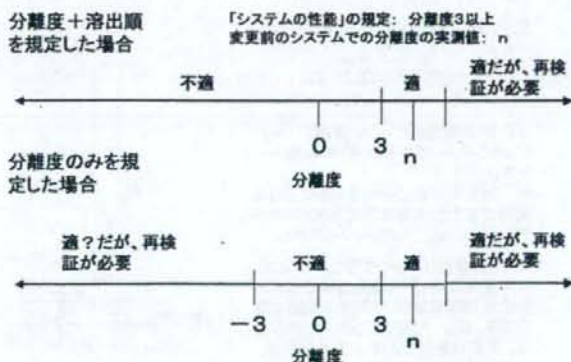


Fig. 1 カラムを交換したときに取るべき措置の分離度に基づく判断のイメージ

どが問題となります。

#### 11. 「システムの再現性」の試験方法と適合要件 (Table 12)

「システムの再現性」の許容限度値は、通常、繰り返し注入における被検成分のレスポンスの相対標準偏差 (RSD) として規定されます。「システムの再現性」の試験は、試料の試験を始める前にすべて済ませておかねばいけないと決められているように考えている方が多いようですので、標準溶液の注入を、例えば、一連の試料の試験の前後に分けて行う方法や試料の試験の間に組み込んで行う方法を採ってもよいことを明記しました。試料の試験を始める前にだけ分析システムの稼働状態をチェックするよりも、このような方法の方が、長い時間におわたる稼働性能をチェックすることになりますので、試験結果の信頼性確保の観点からは好ましいようにも思われます。

繰り返し注入の回数は6回を原則としましたが、1回の分析に時間がかかる場合には、6回注入時にシステムの再現性がどのくらい担保されているかを確認した上で、それと同等の再現性が担保されるように、達成すべきばらつきの許容限度値を厳しく規定することによって回数を減らしてもよいと規定しました。その方法並びに許容限度値の目安については、第二追補に収載予定の参考情報に記載することとしました。

Table 12 「システムの再現性」の試験方法と適合要件

- 「システムの再現性の許容限度値は、通常、繰り返し注入における被検成分のレスポンスの相対標準偏差 (RSD) として規定する。試料溶液の注入を始める前に標準溶液の注入を繰り返す形だけでなく、標準溶液の注入を試料溶液の注入の前後に分けて行う形や試料溶液の注入の間に組み込んだ形でシステムの再現性を確認してもよい。」
- 「繰り返し注入の回数は6回を原則とするが、グラジエント法を用いる場合や試料中に溶出が遅い成分が混在する場合など、1回の分析に時間がかかる場合には、6回注入時とほぼ同等のシステムの再現性が担保されるように、達成すべきばらつきの許容限度値を厳しく規定することにより、繰り返し注入の回数を減らしてもよい。」
  - 繰り返し回数を減らしたときにどの程度の許容限度値とすべきかの目安については、参考情報「システム適合性」に記載する。
- 「システムの再現性の許容限度値は、当該試験法の適用を検討した際のデータと試験に必要なとされる精度を考慮して、適切なレベルに設定する。」
  - 設定すべき許容限度値の目安については、参考情報「システム適合性」に記載する。

#### 12. S/N比 (Fig.2) 及びピークバレー比 (Fig.3) の定義

HPLC/GC法の用語の定義にS/N比及びピークバレー比を追加記載しました。

ピークバレー比とは、クロマトグラム上の2つの

S/N比 次の式で定義する。

$$S/N = \frac{2H}{h}$$

H: 対象物質のピークの基線(バックグラウンドノイズの中央値)からのピーク高さ  
h: 対象物質のピークの前後における試料溶液または溶媒ブランクのクロマトグラムのバックグラウンドノイズの幅

なお、基線及びバックグラウンドノイズは対象物質のピーク高さの midpoint におけるピーク幅の20倍に相当する範囲で測定する。また、溶媒ブランクを用いる場合、対象物質が溶出する位置付近で、上記とほぼ同様の範囲で測定する。

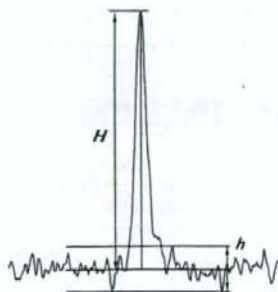


Fig. 2 S/N比の定義

ピークバレー比 クロマトグラム上の二つのピークの間でベースライン分離が達成できないときに、それらのピーク間の分離の程度を示す指標となるもので、ピークバレー比  $p/v$  として次の式で定義する。

$$p/v = \frac{H_p}{H_v}$$

$H_p$ : マイナーピークのピークの基線からのピーク高さ  
 $H_v$ : マイナーピークとメジャーピークの間で分離曲線の最下点(ピークの谷)のピークの基線からの高さ

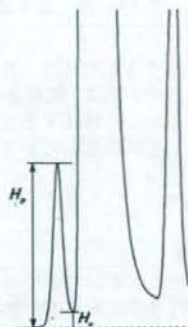


Fig. 3 ピークバレー比の定義

ピークでベースライン分離が達成できないときに、それら2つのピーク間の分離の程度を示す指標となるものです。

日局では、ヒトインスリン(遺伝子組換え)の各条において、ピークバレー比によりピーク間の分離の程度を規定しています。

### 13. 参考情報に収載予定の「システム適合性」の記載内容について (Table 13)

日局 15 第二追補で参考情報に収載予定の「システム適合性」の一般的規定についてご説明します。なお、この参考情報については、現在、改正案に対して寄せられた意見を基に修正案を作成中の段階にあります。以下の説明は、修正案に基づいて行いますが、告示までに多少の変更がありうることをお知らせ下さい。

#### 13.1 まえがき

まえがきには、「試験結果の信頼性を確保するためには、日本薬局方などに収載されている試験法を含め、既存の試験法を医薬品の品質試験に適用する際に、試験を行う施設の分析システムを使って当該試験法が目的に適う試験結果を与えることをあらかじめ検証することが肝要であり、そうした検証を行った上で、分析システムの稼働状態を日常的に確認する試験としてシステム適合性の試験を行う必要がある。」と記載し、「試験法適用時の検証」と「システム適合性」との関係を明確に示しました。

試験法適用時の検証は、分析に携わるものの常識とも言えるものです。これまでしたことのない試験

を行う場合、公定書に記載されている試験法であっても、被検成分はちゃんと検出されるか、妨害はないか、添加回収率はどうかなどの検証を行ってから実際の試料の分析に取り掛かることは、分析者としての常識といえます。これらの検証作業は、公定法収載時に行われた分析法バリデーションを自分のところの分析システムに合わせて、簡略化した形で確かめていることとなります。

Table 14 に示したように、USP31 の <1225> Validation of Compendial Procedures にも、「USP や NF に収載の分析法を医薬品の試験に用いる場合には、その方法の正確さや信頼性について再確認する必要はなく、その方法が実際に使う条件下で試験の目的に適合することを確かめておけばよい、(but merely verify their suitability under actual conditions of use.)」との記載があり、公定法を使う場合であっても、事前に、その方法により、その試験室のシステムを用いて、試験の目的に適う結果を出し得ることを確認(公定法適用時の検証)するよう、FDA が求めていることが明記されています。

#### 13.2 システム適合性の意義

「システム適合性」とは、試験法の適用時に目的に適う試験結果を与えることが検証された分析システムが、実際に品質試験を行う際にも適切な状態を維持していることを確認するための試験方法と適合要件を規定したものです。

通常、一連の品質試験ごとに適合性を確認するための試験が行われます。規定されたシステム適合性