

17	大正製薬㈱	三浦 哲輔	1	アークレイ マーケティング㈱	山下 章吾
18	大日本住友製薬㈱	高寺喜久雄	2	朝日ライフサイエンス㈱	小杉 武夫
19	田辺製薬㈱	中田 誠二			渡邊 雄太
20	テルモ㈱	北條 智行	3	㈱アムコ	吉新 登
21	東菱薬品工業㈱	齋藤 育子			川端 信希
22	東和薬品㈱	菅野 隆行	4	日機装㈱	川村 堯夫
		半田 利恵			本杉 広二
23	㈱ニデック	杉浦 雅彦	5	㈱ヤナコ機器開発研究所	田村 香里
24	ニプロファーマ㈱	石賀 肇			服部 隆俊
25	日本アルコン㈱	中島 好崇			
26	日本化薬㈱	小林 伸一			
		青山けい子			
27	㈱日本点眼薬研究所	田中 充生			
28	日本ベーリンガーインゲルハイム㈱	林 美則			
		深谷 剛稔			
29	光製薬㈱	黒松真希子			
30	扶桑薬品工業㈱	余田 光			
31	持田製薬㈱	猶塚 正明			
32	ヤンセンファーマ㈱	勝又多津子			
33	わかもと製薬㈱	秋葉 清			
		下田 朝之			

文 献

- 1) 坂下 隆, 清水禮治, 上野政一, 綱川延孝, 田村文造: 医薬品研究, 17(6), 1247-1259 (1986).
- 2) 嶋林三郎: 医薬品研究, 26(8), 674-678 (1995).
- 3) 岡田敏史: 医薬品研究, 27(9), 639-643 (1995).
- 4) 奥田秀毅, 松尾賢明, 外岡弘道, 岡田敏史: 医薬品研究, 29(12), 904-912 (1998).
- 5) Robinson, R. A. and Stokes, R. H.: Electrolyte Solutions, 2nd Ed. (Revised), Butterworths (1970), p. 29.
- 6) Kiyosawa, K.: Bull. Chem. Soc. Jpn., 61, 633-642 (1988).
- 7) 厚生労働省: 第十五改正日本薬局方, 2006, p. 43-44.

また、本実験研究にご協力いただいた装置、メーカー各社及び担当者名は次のとおりである（敬称略、五十音順）。

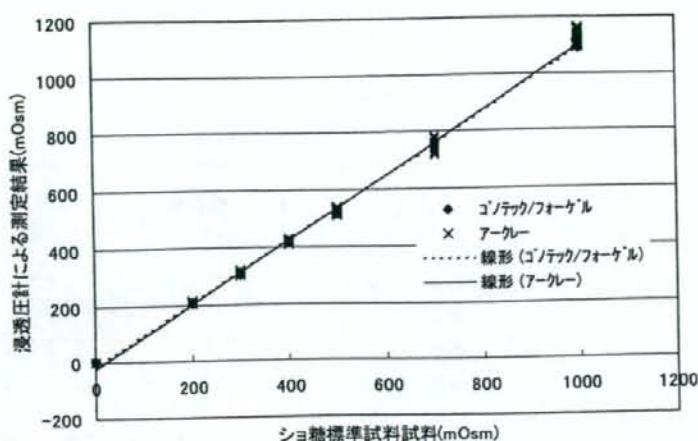


Fig. 7 シヨ糖標準試料の測定結果（アークレー社・ゴノテック/フォーゲル社 23 機種）

Table 8 シヨ糖での回帰式の傾きの平行検定結果

比較メーカー	アドバンス/プレジジョンとの平行性
アークレー	$F_0=517.9(P=0.035)>F(0.05,358,1)=254.0$
ゴノテック (OEMのフォーゲルを含む)	$F_0=423.6(P=0.039)>F(0.05,261,1)=253.8$
フィスケ	$F_0=17.52(P=0.189)<F(0.05,205,1)=253.7$

(3) 今回の共通試料を用いた共同実験結果から、高浸透圧オスモル濃度で浸透圧測定値に機種間差を認めた。今後は、市販製剤を用いて機種間差の実態を確認し、医薬品の規格に与える影響について明らかにする必要があると思われる。

5. 謝 辞

本研究を実施するに当たり、アンケート調査並びに実験にご協力いただきました(株)東京医薬品工業協会の局方委員会及び点眼剤研究会、大阪医薬品協会の技術研究委員会及び点眼剤研究会に加盟している多くの製薬会社、並びに装置メーカー各社の方々に深く感謝申し上げます。そして、データ集計等にご協力いただきました(株)東京医薬品工業協会の寺田三郎氏にお礼申し上げます。

なお、本実験研究にご協力いただいた製薬各社及び研究者名は次の通りである（敬称略，五十音順）。

- | | |
|--------------|-------|
| 1 旭化成ファーマ(株) | 守本 成紀 |
| 2 あすか製薬(株) | 三浦 克浩 |

- | |
|-------------------|
| 3 アストラセネカ(株) |
| 4 エーザイ(株) |
| 5 (株)大塚製薬工場 |
| 6 大原薬品工業(株) |
| 7 (株)オフテクス |
| 8 キッセイ薬品工業(株) |
| 9 グラクソ・スミスクライン(株) |
| 10 三共エール薬品(株) |
| 11 参天製薬(株) |
| 12 塩野義製薬(株) |
| 13 (株)資生堂掛川工場 |
| 14 (株)住化分析センター |

- | |
|---------------|
| 15 生化学工業(株) |
| 16 セリア新薬工業(株) |

- | |
|-------|
| 青木 広記 |
| 池内 孝之 |
| 榎木 政昭 |
| 美好 雅文 |
| 江口 寿 |
| 前田 至主 |
| 八木 幹一 |
| 藤井 隆司 |
| 土屋依久雄 |
| 竹内 雄一 |
| 高瀬 健郎 |
| 熊田 泰之 |
| 宮城 章吾 |
| 川北 敏夫 |
| 岡田 貞子 |
| 佐藤 隆俊 |
| 玉置 富美 |
| 熊本 典子 |
| 瀧森 純 |
| 畠山 勇生 |

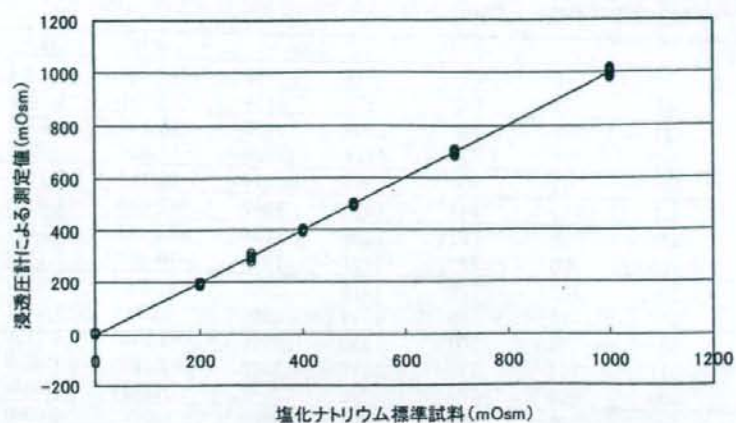


Fig. 4 塩化ナトリウム標準試料の測定結果（全体 41 機種）

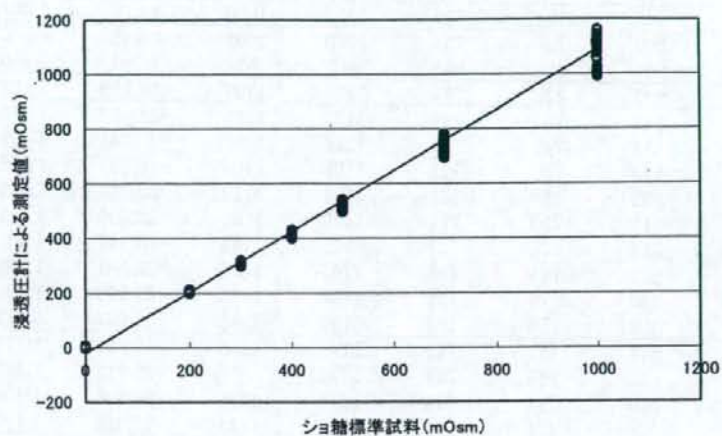


Fig. 5 シヨ糖標準試料の測定結果（全体 41 機種）

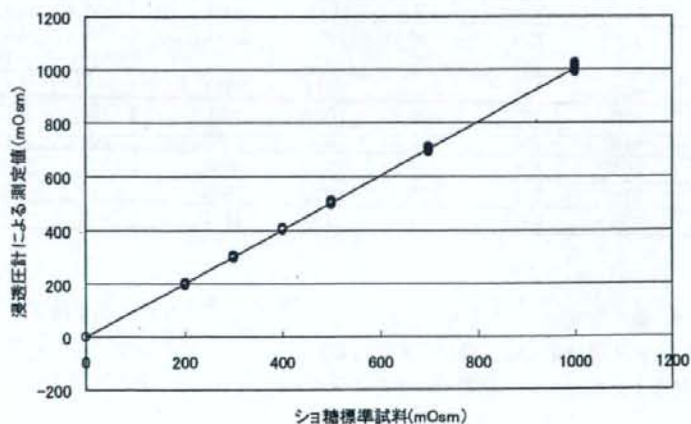


Fig. 6 シヨ糖標準試料の測定結果（アドバンス社・プレシジョン社 11 機種）

浸透圧計での測定結果（単位：mOsm）

500		700		1000		y切片	傾き	相関係数
515	516	746	744	1113	1110	-19.430	1.1084	0.999
520	522	756	748	1113	1114	-18.191	1.1132	0.9993
515	521	747	745	1088	1113	-15.139	1.0982	0.9993
523	527	750	754	1114	1108	-14.826	1.1085	0.9994
526	523	751	750	1097	1124	-18.165	1.1107	0.9992
526	521	745	744	1092	1097	-12.652	1.0920	0.9995
525	525	758	751	1136	1132	-24.045	1.1324	0.9988
523	525	750	740	1121	1119	-19.837	1.1158	0.9990
509	508	709	709	1014	1011	1.213	1.0123	1.0000
506	507	710	708	1017	1009	0.683	1.0127	1.0000
501	504	706	707	1010	1010	-3.538	1.0130	1.0000
510	511	714	716	1018	1023	-1.186	1.0220	1.0000
505	502	693	704	1009	-	0.399	1.0044	0.9999
505	506	708	708	1007	1005	1.467	1.0068	1.0000
500	499	701	699	994	995	1.537	0.9952	1.0000
508	506	706	702	1027	-	-3.870	1.0210	0.9999
507	508	704	709	1005	1000	4.875	1.0013	0.9999
506	509	706	705	1000	1003	3.749	1.0007	1.0000
495	501	696	699	992	988	1.783	0.9907	1.0000
512	523	732	747	1104	1109	-18.695	1.1029	0.9991
516	511	752	744	1121	1122	-23.693	1.1196	0.9987
518	531	741	751	1126	1136	-23.241	1.1267	0.9987
520	523	729	725	1102	1107	-16.692	1.0964	0.9990
523	533	758	746	1121	1119	-20.157	1.1199	0.9992
511	511	730	721	1120	1101	-20.539	1.1012	0.9985
520	521	772	752	1121	1143	-22.757	1.1319	0.9988
530	521	741	748	1161	1128	-25.551	1.1367	0.9981
541	539	775	761	1156	1163	-23.058	1.1561	0.9988
524	524	755	752	1133	1145	-27.093	1.1376	0.9985
519	517	781	745	1118	1096	-18.836	1.1125	0.9991
529	538	758	764	1125	-	-29.912	1.1396	0.9996
520	518	754	744	1116	1095	-19.036	1.1065	0.9992
513	528	721	731	1109	1111	-18.168	1.1004	0.9987
520	514	732	729	1123	1129	-22.015	1.1152	0.9983
501	504	706	704	1012	1012	-4.387	1.0143	1.0000
515	521	729	729	1018	1051	-1.863	1.0382	0.9998
518	521	720	738	1060	1013	-3.457	1.0409	0.9995
527	525	730	729	-	-	0.031	1.0461	0.9999
506	506	711	711	1011	1014	-0.884	1.0146	1.0000
513	510	703	705	1003	998	4.813	1.0003	0.9999
512	510	712	710	1006	1007	3.250	1.0075	1.0000
501	503	700	699	1000	997	3.102	0.9965	1.0000
514	516	735	733	1075	1085	-14.279	1.0797	0.9996
515	523	742	738	1132	1131	-22.934	1.1231	0.9984

4. 考 察

- (1) アンケートの結果では、浸透圧測定における機種間差を認識している実態は、2社に留まった。これは技術移転等のような場合にも異なったメーカーの装置を使用することが少ないこと、

また、高浸透圧比（高オスモル濃度）の注射剤が少ないことに起因していると思われる。

- (2) 浸透圧測定法の課題として、校正あるいは日局の標準液と装置メーカーから供給される標準液との適合性に関する意見が多く見受けられた。

Table 7 ショ糖標準試料を用いた各社

メーカー	型式	参加会社	0	0	200	200	300	300	400	400	
フォージェル	OM801	1	1	1	206	205	308	305	415	415	
	OM802	2	1	0	202	206	310	307	422	426	
	OM802-D	3	2	0	209	205	311	310	416	415	
		4	1	1	208	207	316	315	420	421	
ゴノテック	030-D	5	0	0	205	206	307	309	422	412	
	030-D-RS	6	7	1	206	203	313	308	415	415	
	030-DRS3P	7	0	0	206	204	308	310	414	415	
		8	1	1	206	203	311	311	416	413	
アドバンス	3D3	9	0	0	202	202	306	306	409	408	
		10-1	0	0	202	202	306	305	408	408	
		11	0	0	197	196	298	296	404	402	
		12	0	0	201	202	304	306	407	408	
		13	0	0	201	199	305	304	406	400	
	3900	14	0	0	201	201	305	305	406	406	
プレシジョンシステムズ	A5002	15-1	0	0	199	199	301	302	401	402	
		16	-2	-2	201	201	304	302	403	403	
	5004	17	0	-1	206	205	309	308	407	409	
	XL5007	18	1	1	204	204	303	305	404	406	
16-1		0	0	199	200	302	298	399	398		
アークレイ	OM6030	19	0	0	205	206	308	307	411	412	
		20	0	0	203	202	306	309	409	415	
	OM6040	21	0	0	204	204	309	310	418	412	
		10-2	0	0	204	205	312	306	416	415	
		22	0	0	203	205	310	309	414	420	
		23	0	0	202	204	304	309	415	412	
	OM6050	24	1	1	205	205	311	311	416	420	
		25	0	0	206	207	312	307	417	412	
		26	0	0	208	211	318	318	425	430	
		27-1	0	0	204	204	304	305	413	411	
	OM6060	15-2	0	0	203	205	309	308	418	415	
		16-2	-	-	205	207	316	314	418	423	
		28	0	0	204	202	308	309	408	416	
		29	0	0	206	204	309	311	413	412	
フィスケ	Mark3	27-2	0	0	204	206	311	310	415	413	
		30	0	0	196	196	296	300	400	400	
	One-Ten	2400	31	0	0	204	203	308	309	412	412
		32	0	0	204	204	306	304	409	408	
	T-FI-001	33	0	0	208	208	311	311	423	422	
		34	0	0	198	200	304	303	406	408	
日機装	OSA-21	35-1	0	0	203	202	304	306	411	411	
	OSA-22	35-2	0	0	204	203	306	308	406	408	
クナウフ	D	36	0	0	204	202	303	304	403	406	
レーベリング	F-2000	37	0	0	203	202	305	306	410	410	
東亜DKK	HOSM-1	38	0	1	209	206	309	306	411	419	

ゲル社を含む)の装置は、ショ糖溶液では、浸透圧比が約1、即ち等張付近では顕著に見えないものの、高浸透圧領域のオスモル濃度で10%程度上にずれの傾向があることがわかった。レーベリング社及び東亜DKK社の装置については各1機種ずつしか測

定結果が収集できなかったが、同様の傾向があることが懸念される。

したがって、高浸透圧領域のオスモル濃度ではショ糖という汎用されている糖水溶液において浸透圧計に機種間差があることが判明した。

各社浸透圧計での測定結果（単位：mOsm）

	500	700	1000	y切片	傾き	相関係数		
496	495	693	693	989	991	0.9902	0.9891	1.0000
498	496	697	696	992	991	1.6848	0.9912	1.0000
501	500	700	698	1000	997	2.3413	0.9963	1.0000
496	502	697	696	990	994	1.8935	0.9914	1.0000
502	500	700	699	996	999	0.6489	0.9977	1.0000
505	499	694	696	996	991	1.6728	0.9917	0.9998
499	500	698	701	996	997	0.7772	0.9968	1.0000
498	498	687	694	994	997	0.2837	0.9924	1.0000
502	502	701	702	1009	1010	-1.6848	1.0088	1.0000
499	499	698	697	1006	1006	-2.9076	1.0056	1.0000
501	501	700	698	1005	1005	-3.5543	1.0064	1.0000
499	502	700	705	1010	1014	-3.4772	1.0122	1.0000
501	499	703	703	1009	1009	-3.6837	1.0106	1.0000
500	499	700	700	1008	1006	-3.7587	1.0083	1.0000
498	498	695	695	997	998	0.5402	0.9956	1.0000
500	500	697	700	1001	999	-1.4196	1.0011	1.0000
498	497	690	691	982	984	4.3413	0.9813	1.0000
502	501	692	692	985	986	4.3337	0.9839	1.0000
498	496	691	683	986	982	1.7163	0.9826	1.0000
501	501	699	700	998	998	0.1065	0.9986	1.0000
497	497	694	694	994	995	-0.6109	0.9943	1.0000
503	501	701	700	999	1009	-0.9576	1.0041	1.0000
504	503	701	702	1000	1001	1.1109	1.0007	1.0000
503	502	700	700	999	999	0.4783	0.9996	1.0000
500	499	700	694	1006	1007	-2.0000	1.0050	1.0000
502	502	699	699	1000	1001	1.1620	0.9990	1.0000
501	504	701	702	1000	1007	0.3087	1.0032	1.0000
502	504	702	709	1007	1013	-2.2446	1.0114	1.0000
498	497	698	696	997	997	-0.7348	0.9973	1.0000
504	504	704	704	1005	1009	-0.7500	1.0075	1.0000
508	507	706	707	1004	1005	3.8268	1.0024	1.0000
503	503	702	702	1007	1004	-1.7076	1.0066	1.0000
502	502	700	699	1006	1002	-0.4152	1.0032	1.0000
501	502	700	699	1007	1004	-1.0739	1.0045	1.0000
496	489	694	691	999	1003	-7.2185	1.0039	0.9999
504	502	701	705	1020	1012	-1.9424	1.0139	0.9999
504	502	701	705	1020	1012	-1.9424	1.0139	0.9999
497	499	701	699	999	1001	-1.6772	1.0012	1.0000
499	498	697	699	1006	1006	-2.7359	1.0055	1.0000
500	501	701	703	1003	1005	-0.8011	1.0042	1.0000
502	501	702	702	1005	1004	-0.8130	1.0047	1.0000
490	492	692	693	989	991	-2.1804	0.9909	1.0000
498	498	697	697	1001	1003	-2.0511	1.0017	1.0000
500	500	699	698	998	995	1.4576	0.9959	1.0000

及びゴノテック/フォーゲル社の装置の結果では5%危険率でアドバンス社とプレジジョン社の装置の結果をプールした群と平行ではなく傾きに有意差があり、フィスケ社の装置の結果には有意差は認められなかった。

以上のことから、塩化ナトリウム標準試料並びにシヨ糖標準試料の測定値は、それぞればらつきが小さく再現性良く測定できているが、機種間差のあることがわかった。

アークレイ社及びゴノテック社（OEMのフォー

Table 6 塩化ナトリウム標準試料を用いた

メーカー	型式	参加会社	0		200		300		400	
フォーゲル	OM801	1	1	1	199	198	297	297	398	398
	OM802	2	1	0	198	201	298	300	400	401
	OM802-D	3	2	0	201	203	302	303	401	402
		4	1	1	198	201	299	301	400	397
ゴノテック	030-D	5	0	0	200	200	300	301	400	398
	030-D-RS	6	7	1	200	201	282	301	401	398
	030-DRS3P	7	0	0	200	199	300	302	400	399
		8	1	1	200	201	296	297	396	397
アドバンス	3D3	9	0	0	199	199	301	301	403	402
		10-1	0	0	197	197	298	298	399	400
		11	0	0	196	197	296	294	397	400
		12	0	0	197	197	300	300	401	402
	13	0	0	197	195	299	298	401	400	
	3900	14	0	0	193	195	299	299	400	400
プレシジョンシステムズ	A5002	15-1	0	0	201	201	300	299	400	398
		16	-2	-2	201	199	299	299	399	397
	5004	17	0	-1	201	202	300	301	401	399
	XL5007	18	1	1	200	201	299	300	400	401
16-1		0	0	198	200	298	295	394	395	
アークレイ	OM6030	19	0	0	199	200	299	299	399	400
		20	0	0	198	198	297	297	398	397
		21	0	0	199	199	300	300	401	400
		10-2	0	0	200	201	301	301	403	403
	OM6040	22	0	0	200	199	299	300	401	402
		23	0	0	198	198	299	301	400	401
		24	1	1	201	201	301	300	401	401
		25	0	0	200	201	300	302	402	404
	OM6050	26	0	0	198	199	299	300	402	404
		27-1	0	0	198	198	298	298	399	399
		15-2	0	0	200	200	301	301	402	402
		16-2	-	-	202	202	304	304	406	406
OM6060	28	0	0	198	198	299	299	401	401	
	29	0	0	200	200	300	301	401	401	
	27-2	0	0	201	200	300	299	400	400	
	Mark3	30	0	0	186	190	291	291	394	399
フィスケ	2400	31	0	0	197	200	314	300	403	401
	One-Ten	32	0	0	197	200	314	300	403	401
		33	0	0	199	198	297	296	398	400
	T-FI-001	34	0	0	197	198	297	299	400	400
日機装	OSA-21	35-1	0	0	200	200	300	299	401	402
	OSA-22	35-2	0	0	200	200	300	299	402	401
クナウワ	D	36	0	0	195	196	295	297	391	392
レーベリング	F-2000	37	0	0	198	198	297	298	399	398
東亜DKK	HOSM-1	38	0	1	200	200	301	300	402	401

なく比較的多く報告された。

シヨ糖標準試料での回帰式の傾きに関して、アドバンス社とプレシジョン社の装置の結果をプールした群とアークレイ社、ゴノテック/フォーゲル社及びフィスケ社の3組の装置の結果について統計的に

差があるか、回帰式について非平行性を確認する検定を行った。検定は2群の群別回帰式の回帰係数を比較し、共通回帰から非平行性までの因子で説明しきれない共分散分析での誤差とF検定を実施した。

その結果、Table 8に示すように、アークレイ社

Table 4 浸透圧測定に関わる製薬会社での問題事例

No.	問題事例
1	同一ロットの製剤の浸透圧を測定した際、海外の製造元で約940 mOsmであり、日本では約1000 mOsmであった経験がある。
2	製品の試験を外注した際に、凍結せず測定不能といわれた経験がある（製品の浸透圧比 2.3~3.3, 37℃における粘度約4.4mPa·s）。このとき、製品に不溶の物質であるタルクを添加して測定可能となった。
3	日本薬局方では「二点校正は予想される試料のオスモル濃度を挟む」となっているが、技術移転先所有の装置は50と850 mOsm固定で校正しているため（メーカー推奨であり、変更不可）、900~1000 mOsmの試料を測定する際、日本薬局方どおりに測定するためには、溶液を希釈するよう試験法を変更する必要があった（技術移転元所有の装置は900と1500 mOsmで校正可能のものを使用）。しかし、移転先の装置は定期検査実施時（6カ月毎）には、2000 mOsmまで測定可能なことを確認し、使用時には測定オスモル濃度付近の正確さと精度を確認しているため、試験法を変更することなく技術移転を実施したが、値は移転元と比較し高め（浸透圧比で0.1）であった。技術移転元においても実測値は暫定規格に対して、上限付近であったため、技術移転に苦勞した。

Table 5 浸透圧測定用標準試料の調製表^{6,7)}

(水300.000 gに溶かす量)		
オスモル濃度 (mOsm)	塩化ナトリウム (g)	ショ糖 (g)
200	1.878	20.232
300	2.838	30.054
400	3.810	39.639
500	4.779	49.002
700	6.714	67.128
1000	9.669	92.976

し、常温の精製水と2系列（各6濃度）の標準試料の合計13試料について繰り返し2回の浸透圧の測定を依頼した。

3.3 結果

塩化ナトリウム及びショ糖の標準試料での測定結果をTable 6及びTable 7に示す。また、横軸に調製時の浸透圧標準オスモル濃度、縦軸に測定値をプロットした。

その結果、塩化ナトリウム標準試料ではすべての機種で回帰式の傾きは0.9813~1.0139と良く、相関係数(r)も0.9998以上と良い相関を示していた(Fig. 4)。それに比べ、ショ糖標準試料では、回帰式の傾きが0.9907~1.1561と期待値の1より上方にずれる傾向のある装置があった(Fig. 5)。

ショ糖標準試料について、装置メーカー毎に分類した結果、アドバンス社の装置とプレジジョン社の

装置をプールした群では0.9907~1.0220であったのに対し(Fig. 6)、アークレイ社の装置では1.0964~1.1561、ゴノテック社(OEMのフォーゲル社を含む)の装置では1.0920~1.1324で上方にずれる傾向であった(Fig. 7)。フィスケ社の装置では1.0143~1.0461とやや上方にずれる傾向であった。国内製薬会社での保有実績が殆ど無いレーベリング社の装置は国内代理店の協力により1例、すでに製造販売が中止されている東亜DKK社の装置についても1例のデータ収集であるが、両社とも各々1.0797及び1.1231と上方にずれる傾向のものであった。なお、すべての装置毎のショ糖標準試料の測定結果の相関係数(r)は0.9984以上とばらつきは小さく相関も良好であった。

また、ショ糖標準試料の1000 mOsmにおいて凍結しないエラーが、特定の装置メーカーによること

Table 3 製薬各社から寄せられた疑問・問題点・要望

No.	疑問・問題点・要望
1	JP15では装置校正用オスモル濃度標準液の上限が1000 mOsm標準液となっており、校正液として100 mOsm及び1500 mOsmを用いる仕様となっている機種は、JP対応機種とは言い難い状況がある。3000 mOsm程度の濃度の高い標準液を設定して欲しい。
2	校正に用いる標準液は、メーカーから日局に準じた標準液を市販するように要請して欲しい。
3	200 mOsm標準液を調製・使用しているが、塩化ナトリウム0.946 gを正確に量ることが困難なため、正確な200 mOsm標準液が調製できているのか不安がある。
4	日本薬局方に準じた装置の適合性確認の際、100 mOsm、300 mOsmの再現性が得られにくく、再度自家調製した標準液を用いて実施し適合するといったケースがある。
5	①以前に使用していた機種で、生理食塩液の浸透圧が測定日より3%程度ずれることがあった（同じロットのアンブルのため生理食塩液自体の浸透圧のずれはほとんど無いと考えられる）。製剤評価において生理食塩液に対する浸透圧比を求める場合に問題と思われる。 ②モル凝固点降下を示さないグリセリン等を含む製剤も多く、それらの浸透圧を測定できる機器の開発が必要である。
6	機器メーカーから供給される標準液が、日本薬局方の規定に対応していないため、標準液を自家調製するしかない状況に不便を感じている。
7	1000 mOsmを超える浸透圧を有する製品を測定する際に、希釈係数で補正しても、既に物性値として広く知れ渡っている希釈前の浸透圧と差があったため、希釈後の測定への変更を見合わせている。そのため、日本薬局方に規定されていない標準液を用いる測定となっている。
8	熱伝導液（冷媒）を循環する方式の装置を使用しているが、使用頻度が少ないため（1～2週間に1回程度）、熱伝導液がラインで結晶化して詰まり熱伝導液が循環しないことがある。
9	校正に用いる標準液（2000、2500 mOsm）を自家調製した際、機器メーカーより購入した標準液の測定値との差異を認めた事があった。標準液を調製する際の溶解に使用する水の温度等の注意すべき点を明確に記載した事項が必要でないか。
10	試料のセッティング方式が吸引式の装置では、高粘性の試料が吸引出来ず、測定ができない。
11	校正値には、規格範囲（100±1 mOsm、500±3 mOsmなど）を規定する必要がある。また、校正値がどのような計算方法で算出されているのか出典を明らかにして欲しい。
12	100、1500 mOsmの固定の2点校正を実施する装置で、1500 mOsmは15局の装置校正用オスモル濃度標準液にないため（またメーカー提供品のため組成も不明）、厳密には局方に従った校正をしていない。装置の適合性に適合することを確認した上で、試験実施している。 装置の校正濃度が変更可能ではあるが、メーカーの推奨が100、900 mOsmの2点校正となっている場合に、校正は試料の測定ごとに予想される試料のオスモル濃度を挟む二種の装置校正用オスモル濃度標準液で校正を行う必要があるのか。 予想される試料のオスモル濃度を挟む標準液濃度には、直近の標準液濃度を使用する必要があるか。それとも広い範囲で考えて100 mOsmと1000 mOsmを用いて行ってもよいか。 また、適当な期間ごと（3カ月ごとあるいは6カ月ごと等）に校正を実施し、装置の適合性から外れた場合には、その都度実施する等の運用ができないか。 装置の適合性で確認を行うため、校正の方法を詳しく規定する必要はなく、メーカー推奨の方法に従ってもよいのではないか。

100と1000 mOsmの日本薬局方の標準液を調製して使用するかのどちらでも良いとした。

3.2.2 試料の測定

試験まで冷蔵（2～8℃）保管とし、測定の数時間前に試験室に取り出し、液温が常温に戻るまで放置

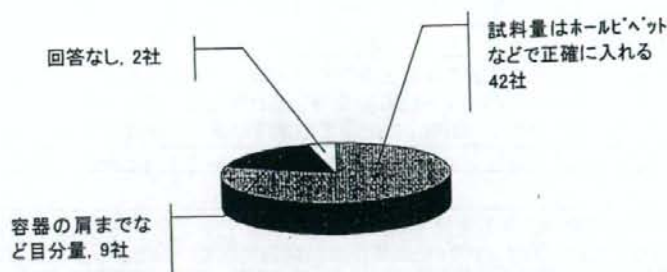


Fig. 3 測定者が直接セルに入れる場合の試料導入方法

方法を Fig. 3 にそれぞれ円グラフで示す。

校正標準液の使用実態は、装置メーカーの付属標準液のみを使用している会社が 45 社と最も多く、日局に準拠して自社で調製した標準液のみを使用している会社は 21 社であった。また、装置メーカー付属標準液並びに日局準拠の自社で調製した標準液の両方で校正している会社は 11 社であった。試料導入方法については、ノズルから試料を吸引する機種以外では、ホールピペットなどを使用して正確に入れているケースが 42 社と多く、容器の肩まで入れるなどの目分量で対応しているのは 9 社であった。

校正・測定について、製薬各社から寄せられた疑問・問題点・要望を Table 3 に示す。

日局に規定されている校正標準液が市販の浸透圧計の付属標準液と合っていないなどの校正標準液に関する意見が多数寄せられた。

2.3 浸透圧測定に起因する問題事例

水性注射剤において、浸透圧比を示性値として設定する場合のデータ取得時、又は技術移転の際などに、試験室間の測定値の差、あるいは規格外結果 (OOS) が発生したなどを想定し、浸透圧に関連する問題事例について調査を行った。

回答からは想定していた問題事例は収集できなかったが、Table 4 に示すように、規格に係わる重大な問題に発展するケースが一部に見受けられた。

3. 実験の部：共通試料（標準試料）の測定

3.1 方法

3.1.1 標準試料の調製

標準試料の調製は、有限責任中間法人 HECTEF スタンダードレファレンスセンター（川崎市高津区）に依頼した。

3.1.2 調製方法⁵⁻⁷⁾

試薬として、塩化ナトリウムは JIS K 8005 容量分析用標準物質（純度 99.98±0.1%，和光純薬工業）を 600℃で 60 分間乾燥してデシケータ（シリカゲル入り）で常温まで放冷したものを、ショ糖は高純度試薬（純度 99.5%，シグマ社）を、調製用水は蒸留水（総塩類含量 0.0005% 以内，和光純薬工業）をそのまま用いた。

Table 5 に示した各オスモル濃度に相当する塩化ナトリウム又はショ糖を正確に量り、水 300.000 g を正確に加えて溶解して調製した。秤量は、JCSS（計量法校正事業者認定制度）によって校正された天秤を使用した。

3.1.3 分注・滅菌・配付

調製した各標準試料の溶液を褐色バイアル（硼硅酸ガラス製、ブチルゴム栓、ポリプロピレン製スクリュウキャップ付）に 3 mL ずつ分注して施栓後、電子線滅菌し、製した。

貯法は冷所保存とし、協力会社への搬送は、冷蔵の宅配便を用いた。配付に際しては、A 及び B 系列として試料明細を伏せた。

3.2 共同実験

3.2.1 機器校正

浸透圧計の各装置メーカーの取扱説明書で指定する校正を行った。2 点校正と 3 点校正が選択できる場合は、3 点校正を選択しての実施を依頼した。

校正に用いる標準液については、装置メーカーが供給する標準液、日本薬局方の一般試験法に準拠して自社で調製した標準液のどちらでも良いことにした。

装置によっては、校正する下限と上限の浸透圧値を任意に選定できる場合がある。その場合は、各協力製薬会社の手順書に従って実施するか、あるいは、

Table 1 浸透圧計装置メーカーと保有製薬会社数

浸透圧計装置メーカー	保有製薬会社数
アークレイ (旧京都第一科学を含む)	28
アドバンス	25
フィスケ	10
ゴノテック (OEMのフォーゲルを含む)	8
プレジジョンシステムズ	6
東亜DKK	5
レーベリング	2
合計	85

Table 2 浸透圧計の冷却機構

冷却機構	回答製薬会社数
冷媒使用	33
ペルチェ効果	21
その他*	28
わからない	3
合計	85

* : USC方式 超過冷却 (アークレイ社製)

冷却機構としては、冷媒使用が33社、ペルチェ効果が21社、その他としてアークレイ社独自の冷却機構であるUSC方式超過冷却が28社であった。なお、わからないと回答した会社も3社あり、冷却機構の詳細がユーザーに開示されていないことも窺えた。

2.2 校正・測定に関する調査

以下の項目について調査を行った。

- ① 校正に用いる標準液 (装置メーカー付属品、日局に準じて自社で調製、第三者機関供給品)
- ② 試料のセッティング方式 (測定者が直接セルに入れて試料容器を冷却する、ノズルから試料を吸引、その他)
- ③ 試料容器を冷却する場合の試料導入方法 (試料量はホールピペットなどで正確に入れる、容器の肩までなど目分量など)
- ④ 校正・測定に関する疑問・問題点・要望

集計結果から、校正標準液の使用実態をFig.1に、試料のセッティング方式をFig.2に、測定者が直接セルに入れて容器を冷却する場合の試料導入

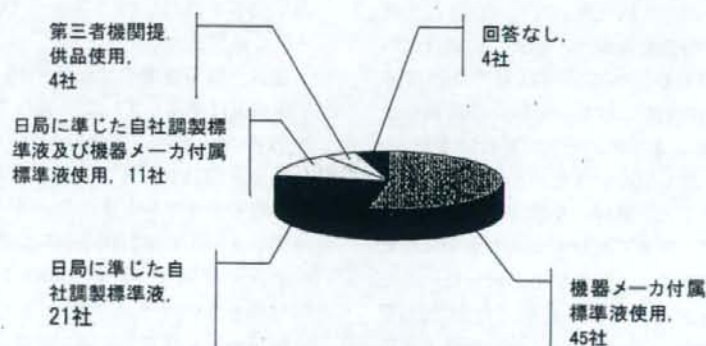


Fig.1 校正標準液の使用実態

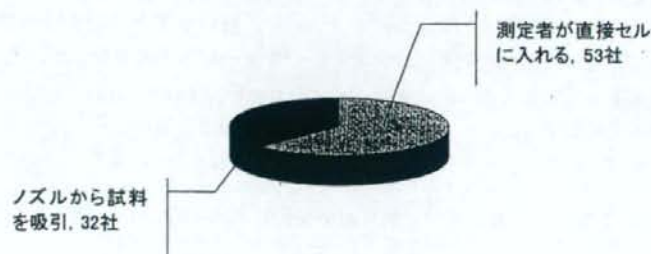


Fig.2 試料のセッティング方式

平成 18 年度「日本薬局方の試験法に関する研究」研究報告^{*4}
浸透圧測定法における機種間差に関する研究 (第一報)

柘植 英哉^{*1}, 中島 辰巳^{*1}, 大内 正^{*1},
青木 光夫^{*2}, 大久保恒夫^{*2}, 四方田千佳子^{*3}

1. 緒 言

日本薬局方一般試験法 2.47 浸透圧測定法 (オスモル濃度測定法) は, 東一的性質の一つである凝固点降下法を用い, 試料を凝固点まで冷却し, 溶液が凝固した時点の凝固点降下度から質量オスモル濃度を求める方法である. 本方法は, 第十一改正日本薬局方追補 (1988) において新規収載された. その後, 第十三改正日本薬局方第二追補 (1999) において試験法の名称変更を含め大幅な改正が行われた.

社団法人東京医薬品工業協会 (以下, 東薬工と略す) の局方委員会及び大阪医薬品協会 (以下, 大薬協と略す) の技術研究委員会は, 過去, 会員会社の協力を得て, 一般試験法への新規収載のための検討¹⁾, 収載された試験法に対する問題点の指摘や改正への提案²⁾ に応えるための研究³⁾ を行いながら, 本試験法の充実に取り組んできた.

今回, 凝固点降下法を用いた浸透圧計の機種間差の問題を取り上げ, 東薬工及び大薬協の各会員各社へのアンケート方式による実態調査を行った. また, 会員各社と浸透圧計のメーカーを併せた 38 社 (製薬会社: 33 社, 機器のメーカー: 5 社) の協力を得て, 共通試料を用いた共同実験を計画・実施し, 機種間差の実態の一部を明らかにしたので報告する.

なお, 本共同実験において市販製剤 (4 品目) を用いた測定も行ったが, 平成 19 年度研究において機種間差の解決策の策案も予定しており, 次年度の研究報告として合わせて報告する.

2. 東西製薬会社への現状調査及び意見収集

2.1 調査項目及び方法

東薬工の局方委員会及び点眼剤研究会, 大薬協の技術研究委員会及び点眼剤研究会に加盟している東西製薬会社 (153 社) に, 浸透圧計 (凝固点降下法) の保有装置 (機器の名称, 型式, 冷却機構, メーカー名, 代理店名及び代理店連絡先), 校正・測定, 測定に起因する問題事例, 共通試料を用いた浸透圧計の機種間差の実態を解明するための共同実験への参加の可否についてアンケート調査を実施し, 100 社より回答を得た. (アンケート用紙の様式を最終ページに添付した)

なお, 回答を得た 100 社の内, 23 社は浸透圧計を保有又は使用していない会社であったため, 実質は 77 社からの回答を集計した. また, 複数機種を保有する会社があることから, 集計結果 (会社数) は重複してカウントされている.

アンケートの集計結果から, 浸透圧計装置メーカーと保有製薬会社数を Table 1 に, 浸透圧計の冷却機構を Table 2 に示す.

製薬会社が保有している装置のメーカーは, 全部で 8 社にわたり, アークレイ社 (旧京都第一科学を含む) の装置を保有している会社が 28 社と最も多く, 続いてアドバンス社の 25 社であった. なお, フォーゲルの装置は, ゴノテック社の OEM (Original Equipment Manufacturing) で, 同じ測定機構の装置である.

^{*1} 社団法人東京医薬品工業協会局方委員会 東京都中央区日本橋本町 2-1-5 (〒103-0023)

^{*2} 大阪医薬品協会技術研究委員会 大阪市中央区伏見町 2-4-6 (〒541-0044)

^{*3} 国立医薬品食品衛生研究所 東京都世田谷区上用賀 1-18-1 (〒158-8501)

^{*4} 本研究は, 平成 18 年度日本公定書協会の「日本薬局方の試験法に関する研究」により実施したものである.

透過性と比較することにより、放出試験との相関を検討し、放出試験は絶対的な有効性との相関を示すものではないが、ヘアレスマウスの皮膚透過性とある程度の相関があることを示した。また、放出性が試験液と接することで大きく変わる製剤では、膜透過性との相関は著しく悪いことも示唆された。

更に、メンブランフィルターによる成型物は軟膏等の製剤にも適用可能であり、熱溶着可能であればどのような膜も使用可能であり、いろいろな製剤への応用が可能であると思われた。

皮膚適用製剤の放出試験は、試験液に曝され、受け側が水溶液であるなど、必ずしも適用時の皮膚表面での放出性を捕らえるものではなく、異なる処方の製剤間での比較にも用いられるべきものではない。

それぞれの製剤の品質特性を捉え、品質の管理に有効な試験法と位置づけられるものである。

謝 辞

試験用製剤を御供与下さいました、外用製剤協議会に深謝致します。

文 献

- 1) 柴富志治他：薬理と治療, 20, 81-94 (1992).
- 2) 澤井義弘, 永田清則, 辻 保宏：Prog. Med., 20, 1833-1836 (2000).
- 3) 四方田千佳子, 保立仁美, 伊豆津健一, 青柳伸男：医薬品研究, 38(5), 235-241 (2007).

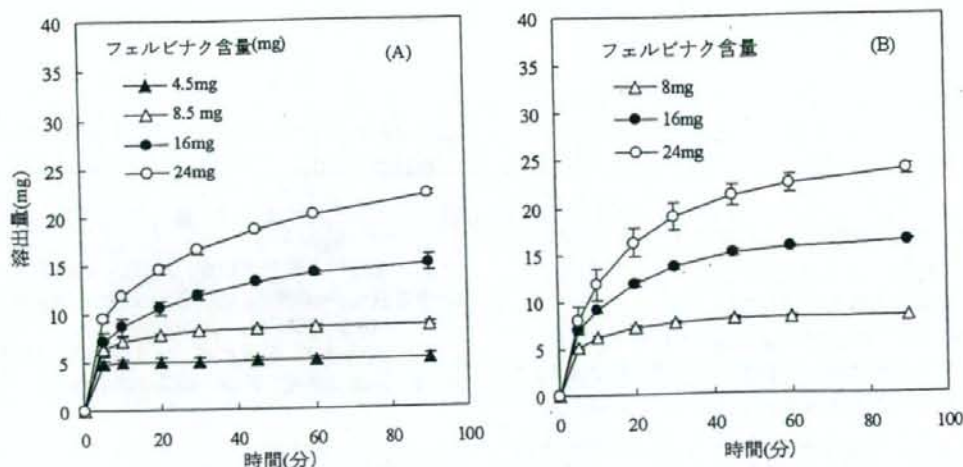


Fig. 5 フェルビナク軟膏の放出試験
(A) メンブランフィルターの袋状成型物による放出試験
(B) 軟膏セルとメンブランフィルターによる放出試験

5に示した、貼付剤と同量となる軟膏量は0.27g (フェルビナクとして8mg)であるが、Fig. 5 (A)から明らかのように、軟膏からの放出は比較的速く、すぐに放出が終了した。軟膏用の市販の装置としては、Hanson社が発売しているテフロン性のベッセルの底部に沈めるタイプの軟膏セルがある。ここでは、(A)で使用したものと同一PVDF膜の45mm径の膜を使用して、同様の試験を軟膏セルでも行い、結果をFig. 5 (B)に示した。軟膏セルでは、膜固定の蓋の部分にパッキンが無い場合、水が膜内に入りやすく、やや放出が速い傾向があるが、Fig. 5 (A)とほぼ類似の結果となった。軟膏の放出試験では、軟膏内を薬物が拡散する速度を捕らえることが必要であり、Higuchi式に準じて、時間の平方根に対して、放出量を図示して、Fig. 6に示した。0.8g (フェルビナクとして24mg)の軟膏を塗布した場合にほぼ直線が得られ、軟膏剤の放出性の比較が可能であると思われた。フェルビナク軟膏では、1g中に30mgのフェルビナクを含有しており、含量がそれほど多くないため、膜への塗布量ぎりぎりまで多くする必要があった。しかし、適用可能な量は軟膏セルでもほぼ同じであった。軟膏の放出性の検討では、軟膏中での薬物の拡散を比較できる量とすることに留意する必要がある。

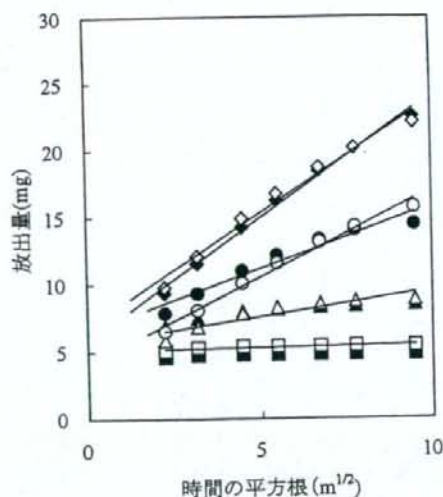


Fig. 6 Fig. 5(A)の時間の平方根に対する再プロット

4. 考察

本研究では、2年にわたり、皮膚適用製剤の溶出試験の日局への取載を目指し、試験の本質的な要因を明らかにすることを試みると共に、バドル法による皮膚適用製剤の放出試験で、メンブランフィルターを製剤に簡便に装着する方法を提案した。

今年度は、前年度の結果をヘアレスマウスの皮膚

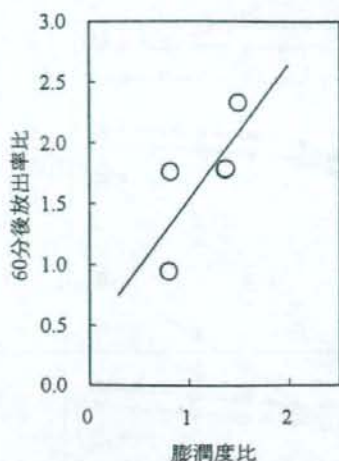


Fig. 3 フェルビナク貼付剤のメンブランフィルター膜使用の有無に基づく放出率比と膨潤度比の関係

間後では最も透過性が低いことを示している。したがって、これらの二つの製剤は他の製剤とはプロット位置が大きくはずれている。これらの2製剤を除くその他の製剤間で相関をとると、直接製剤が試験液に接する条件では相関係数は0.5922であっ

たのが、メンブランフィルターを介した放出試験では、相関係数0.7711とかなり改善される。放出試験は必ずしも製剤の有効性を担保する目的ではなく、製剤のロット間での品質のバラツキの検出を担うものであるが、フェルビナクのように比較的溶解性が良く、透過性も良好な製剤では、ある程度皮膚透過性との相関があると思われた。

3.4 メンブランフィルターによる袋状成型物の軟膏剤への適用

前報³⁾で報告したメンブランフィルターのヒートシールによる成型物は、片方の膜を非透過性の膜にし、製剤を塗り、反対側にメンブランフィルターを溶着することにより軟膏剤にも適用可能であった。フェルビナク軟膏を0.15~0.8 g (フェルビナク量として4.5~24 mg) とって、EVAフィルムにできるだけ均一に4 cm角内に塗り、その上に4 cm以上となるように切ったPVDF膜を重ね、4 cm角になるように熱溶着した。軟膏の塗布量は、塗布したEVAフィルムの重量をできるだけ迅速に測定して求めた。試験時には成型物をバドルオーバーディスクに両面テープで固定し、バドル法により試験を行った。各量での試験を2回ずつ実施し、軟膏からのフェルビナクの放出量を時間に対して図示し、Fig.

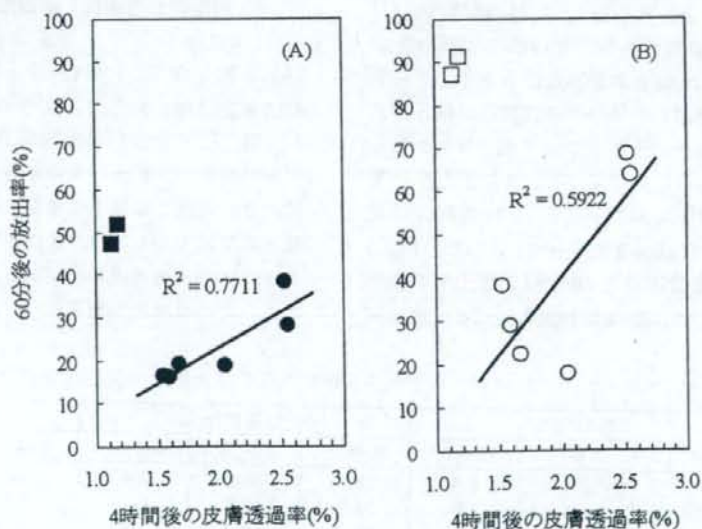


Fig. 4 ヘアレスマウスの皮膚透過率 (4時間) と放出率 (60分) の関係
(A) メンブランフィルターの袋状成型物による放出試験
(B) 膜を介さない放出試験

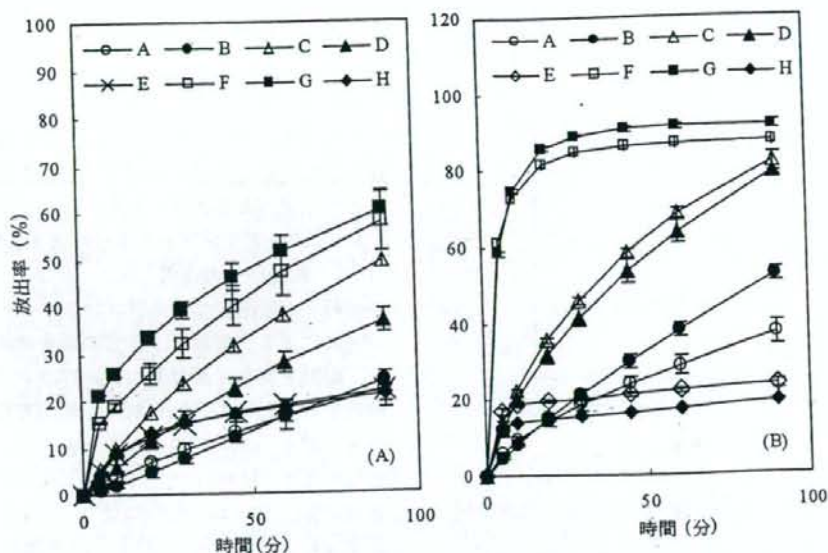


Fig. 2 フェルビナク貼付剤のバドル法による放出率
(A) メンブランフィルターの袋状成型物による放出試験
(B) 膜を介さない放出試験

ただし、医薬品を含む基剤部分以外の支持体の重量変化は、製剤を試験液に浸した直後の重量増加分で見積もり差し引いた。結果を Table 1 に示す。製剤は Fig. 2 (B) でそれぞれ特徴的なものを代表として選んでおり、A, B, C はゲル様の製剤で、G, H はテープ状の製剤である。ゲル様の製剤の方が試験液に直接接したときの膨潤度は大きく、テープ状製剤では膜を使用した場合の重量変化はほとんどなく、かえって誤差が大きくなって減少傾向が見られた。また、Fig. 2 における 60 分後の放出率の値と、Fig. 1 における 4 時間あるいは 24 時間後の皮膚透過率の値を Table 1 に併せて示した。Fig. 3 に、Table 1 の膨潤度比と 60 分後の放出率の相対比の関係を図示した。膨潤度が大きいほど、放出率

の相対比が大きくなる傾向が見られる。ただし、テープ剤である製剤 G では、膨潤度は低いものの、基材が直接試験液に接触することにより放出率が大きくなっていることが示された。

3.3 製剤の膜透過性と放出性の関係

Fig. 4 にメンブランフィルターを介した場合 (A) と膜を介さない場合 (B) について、4 時間後の皮膚透過率に対して、60 分後の放出率を図示した。■, □ で示したのは製剤 F と製剤 G で、テープ剤であるが、放出が水の影響を受けやすいもので、膜のない状況では放出は非常に速く、膜を介すると放出は半減するものの、水の影響は大きい。ヘアレスマウスの皮膚透過性の試験では、ほとんど水を通さないために水の影響を受けず、製剤 E, G が 4 時

Table 1 フェルビナク貼付剤の放出試験液中での膨潤度と放出率及び皮膚透過性との比較

製品	膨潤度*			60 分後放出率			皮膚透過率	
	膜無し	膜使用	相対比	膜無し	膜使用	相対比	4 時間後	24 時間後
A	4.5	3.3	1.4	28.9	16.2	1.8	1.60	18.13
B	5.0	3.4	1.5	38.1	16.3	2.3	1.53	15.14
C	3.4	2.5	1.4	68.5	38.3	1.8	2.53	27.03
G	1.0	1.2	0.8	91.1	51.8	1.8	1.19	22.03
H	0.8	1.0	0.8	17.6	18.6	0.9	2.04	17.78

*各製剤を試験液に 1 時間浸して重量を測定し、重量増加比を膨潤度とした。

2.4 メンブランフィルターによる袋状成型物の作成

ミリポア製の親水性デュラポアメンブランフィルター (HVLP) を使用し、軟膏の場合には、片面をエチレンビニルアセテート (EVA) フィルムとしてヒートシールで溶着し、袋状とした。軟膏は適量をEVA膜に塗り、速やかに重量を測定後、HVLP膜を塗布面に重ねて溶着した。EVA膜は放出制御膜として出されているものであるが、フェルピナクをほとんど透過しないことを確認した。溶着型ヒートシーラーは、白光製製のシール幅1.6mmのものを使用した。

2.5 皮膚透過試験における試験液中のフェルピナク含量の測定

膜透過試験による試験液中のフェルピナク含量はHPLCにより測定した。HPLC装置は、Agilent 1100シリーズ、カラムは、関東化学製 Mightysil RP-18 GP150 (4.6×150 mm)、移動相はリン酸 (1→1000) : アセトニトリル = 1 : 1、検出波長は 254 nm とし、カラム温度 40℃、流速 1 mL/min で試験を行った。

3. 実験結果

3.1 ヘアレスマウスの皮膚透過試験

フェルピナクの市販8製剤の、ヘアレスマウスの皮膚を用いた透過試験の結果を Fig.1 に示した。1~5時間の間は毎時間ごとに、その後24時間に試験液を採取した。図で (A) には、24時間までを、(B) に5時間までのグラフを示した。5時間までは、C、Dのゲル様の製剤で透過が最も早く、F、Gのテープ状の製剤が最も遅くなった。また、F、Gの製剤では24時間後では透過量はやや逆転して早くなる傾向が認められた。

3.2 放出試験と製剤の膨潤度

前報³⁾の8種製剤のバドル法による放出試験結果を Fig.2 に示した。ここで、(A) はメンブランフィルターによる袋状の成型物に製剤を入れた場合の放出率、(B) はそのままバドルオーバーディスクに製剤を貼り付けて試験を実施した場合の放出率を示している。(A) では、試験液によるぬれが少ない分、製剤の膨潤は起こりにくく、放出率も低めになっていると推測された。そこで、5種の製剤について、各製剤をそのまま、あるいはメンブランフィルターの成型物に入れて試験液に浸し、1時間後に重量増加を測定することにより膨潤度を見積もった。

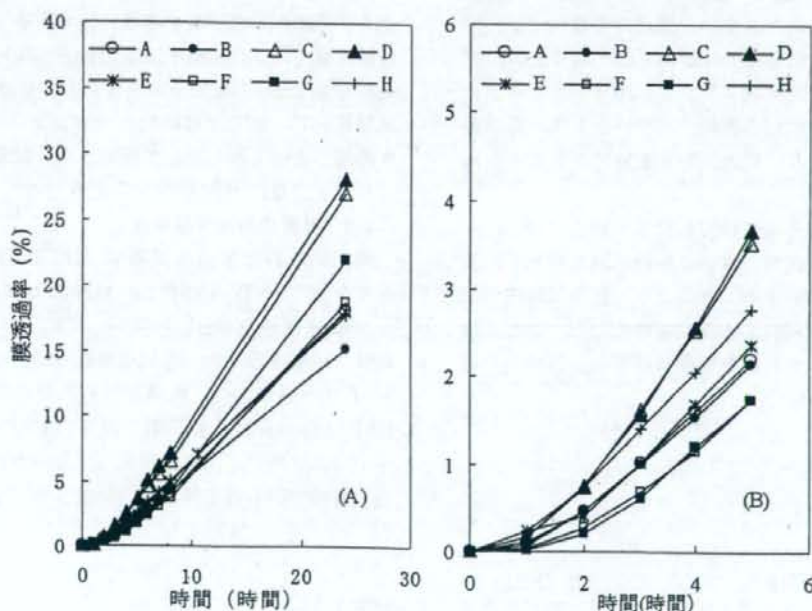


Fig.1 フェルピナク貼付剤のヘアレスマウス皮膚透過率

平成 18 年度「日本薬局方の試験法に関する研究」研究報告***

— 皮膚適用製剤の溶出試験に関する研究 (2)* —

四方田千佳子, 保立 仁美, 伊豆津健一, 川西 徹**

1. はじめに

皮膚適用製剤の放出試験法としては、欧州薬局方 (EP) や米国薬局方 (USP) には、経口固形製剤の溶出試験用装置で、ベッセル内にパドルオーバーディスク (EP, USP) やエクストラクションセル (EP) のような製剤を固定する装置を設置する方法、パドル部分を改変したシリンダー等の溶出試験法が数種収載されている。しかし、日本薬局方 (日局) では、皮膚適用製剤の品質評価法を収載しておらず、本研究では、これらの試験法に関する検討を実施し、日局への適切な取り込みを目指すことを目指した。

フェルピナク貼付剤については、貼付剤適用時のフェルピナクの体内動態¹⁾、マウス皮膚透過性²⁾等の報告は散見されるが、貼付剤からの放出挙動等の詳細な検討は見あたらない。既に、前報³⁾では、フェルピナク貼付剤をモデル製剤として取り上げ、パドル法において、メンブランフィルターをヒートシールにより袋状にして製剤を試験液から隔てる工夫をすることにより、放出試験を実施できることを示した。

本年度は、初年度に検討した貼付剤について、ヘアレスマウスの皮膚を用いる透過試験を実施し、放出試験と比較検討することにより、放出試験法の位置付けをより明確にすることを目指した。また、提案した試験方法を更に軟膏剤に適用し、試験の可能性を検討した。

2. 実験条件

2.1 試験製剤

皮膚適用製剤としてフェルピナク貼付剤、軟膏剤を取り上げた。貼付剤は、前報¹⁾と同様に市販のもの及び供与されたもの合わせて 8 種を使用した。このうち 4 製剤は、ポリアクリル酸などを基材とする含水ゲル様製剤、その他の 4 製剤は、メタクリル酸・アクリル酸 n -ブチルコポリマーやスチレン・イソブチレン・スチレンブロック共重合体等を基材とする固い高分子層からなるテープ状の製剤であった。フェルピナク軟膏剤として、市販の 1g 中フェルピナク 30 mg を含有するもの 1 製剤を使用した。

2.2 マウスの皮膚透過試験

ヘアレスマウスの皮膚は、(株)星野実験動物飼育所より 7 週齢の雄の皮膚を凍結状態で入手した。皮膚透過試験では、Hanson Research 社製の 15 mm ϕ 、セル容量 7 mL の拡散セルを使用し、生理食塩水を試験液とし、32 $^{\circ}$ C で経時的にマニュアルで 0.2 mL を補液しながら押し出して採取した。試験液中のフェルピナク量は HPLC により定量した。

2.3 軟膏の溶出試験条件

溶出試験器は富山産業(株)製、NTR-6100 にオートサンプラー-W を接続し、試験液には pH 6.0 のリン酸緩衝液 900 mL を用い、32 $^{\circ}$ C、パドル法 50 回転で試験を行った。各試験液採取時間に試験液を 5 mL ずつ採取した。軟膏を塗った膜の固定には、USP Apparatus 5 に収載されているパドルオーバーディスク用ディスクに準拠して作成されている富山産業(株)製のものを使用し、両面テープで固定した。

* 前報：医薬品研究, 38(5), 235-241 (2007)

** 国立医薬品食品衛生研究所薬品部 東京都世田谷区上用賀 1-18-1 (〒158-8501)

*** 本研究は、平成 18 年度日本公定書協会の「日本薬局方の試験法に関する研究」により行ったものである。

ンカルシウム中のOSCSのシグナルはブロードであることが確認された。したがって、我が国におけるヘパリンカルシウム中のN-アセチル基に由来するシグナルの化学シフトの規格は、幅をもたせた2.13~2.23 ppmとすることが適当であろうと判断された。

OSCSの限度値は、OSCSが有害事象の原因物質であること、製造工程や環境から混入する可能性はないこと、及び目的物質関連物質として混入する可能性もないことから、「2.13~2.23 ppmにOSCSに由来するシグナルを認めないこと」が適当であると考えられる。これは、ヘパリンナトリウム同様、検出限界0.5%程度の限度試験であることを意味する。したがって、システムの検出感度が0.5% OSCSを検出するのに十分であることを確認することが重要である。すなわち、OSCSのTSP重水溶液(0.1 mg/0.6 mL)にOSCSを含まないヘパリンカルシウムを添加して¹H-NMRを測定したとき、2.02~2.06 ppmと2.13~2.23 ppmにそれぞれヘパリン及びOSCSのN-アセチル基に由来するシグナルが検出されることを確認する必要がある。500 MHzの装置を用いた場合は、¹³CサテライトピークがOSCSのN-アセチル基と同じ位置に検出されることが明らかになったが、デカップリングにより¹³Cサテライトピークか否かを確認する必要がある⁹⁾。

謝 辞

ヘパリンナトリウムをご供与いただきました日本

バルク薬品㈱に深く御礼申し上げます。本研究遂行にご協力いただきました厚生労働省医薬食品局審査管理課鷺田淳専門官、鈴木克之主査、独立行政法人医薬品医療機器総合機構品質管理部基準課上野清美課長、森田 収氏、仁後知子氏にお礼申し上げます。

本研究の一部は厚生労働省の支援によって行われたものである。

文 献

- 1) Guerrini, M., Beccati, D., Shriver, Z., et al.: *Nat. Biotechnol.*, **26**(6), 669-675 (2008).
- 2) Kishimoto, T. K., Viswanathan, K., Ganguly, T., et al.: *N. Engl. J. Med.*, **358**(23), 2457-2467 (2008).
- 3) <http://www.fda.gov/cder/drug/infopage/heparin/default.htm>.
- 4) http://www.edqm.eu/medias/fichiers/Heparin_sodium_monograph_Revised.pdf.
- 5) <http://www.usp.org/hottopics/heparin.html>.
- 6) <http://www.usp.org/pdf/EN/USPNF/revisionBulletinHeparinCalcium.pdf>.
- 7) http://www.edqm.eu/medias/fichiers/Heparin_calcium_monograph_Revised.pdf.
- 8) Montgomery, R. I., Lidholt, K., Flay, N. W., et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **89**(23), 11327-11331 (1992).
- 9) Yamaguchi, H., Shinagawa, M., Shimba, N., Miyano, H., Suzuki, E.: *Yakugaku Zasshi*, **128**(10), 1513-1515 (2008).

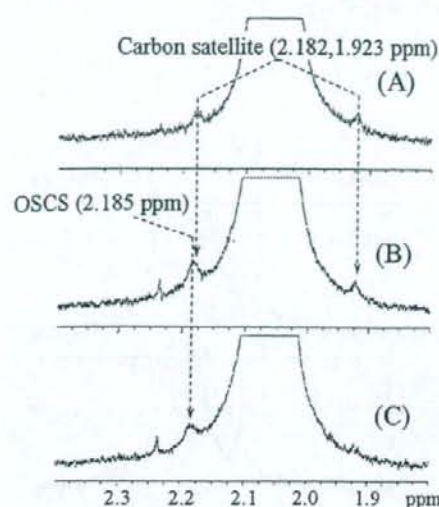


Fig. 3 0.5% OSCS をヘパリンカルシウムに添加したときの OSCS の *N*-アセチル基のシグナル及び ¹³C-サテライトピーク

(A) ヘパリンカルシウムのみ (デカップリングなし), (B) 0.5% OSCS 添加ヘパリンカルシウム (デカップリングなし), 及び (C) 0.5% OSCS 添加ヘパリンカルシウム (デカップリングあり).

付近及び 2.18~2.19 ppm に観測された (Table 1). 400, 500 及び 600 MHz の装置を用いたときの低磁場側の ¹³C サテライトピークの化学シフトは, それぞれ 2.212, 2.180~2.182 及び 2.157~2.158 ppm

であった. ¹³C サテライトピークと OSCS のシグナルが重ならない 400 及び 600 MHz を用いた試験室では, 0.5% の OSCS を検出可能と判断した. 500 MHz を用いた 2 試験室はいずれも ¹³C サテライトピークと OSCS のシグナルが重なることを確認したが, 0.5% の OSCS は検出可能と判定した.

考 察

ヘパリンナトリウム純度試験と同様の分析条件により, OSCS を添加したヘパリンカルシウムの ¹H-NMR を測定したところ, ヘパリンと OSCS の *N*-アセチル基に由来するシグナルが 2.04~2.05 ppm 及び 2.18~2.19 ppm と離れた位置に観察された. また, ヘパリンナトリウムの場合と同様に 0.5% の OSCS を検出できることが確認された. これらの結果から, ¹H-NMR は, ヘパリンカルシウム中の OSCS の限度試験として応用可能であることが示唆された.

ヘパリンカルシウム中の OSCS の *N*-アセチル基のシグナルの化学シフトの規格として, 米国薬局方では, ヘパリンナトリウムと同様の 2.13~2.19 ppm が設定されている. しかし, 日本国内 3 機関 4 試験室による共同検定の結果, ヘパリンカルシウム中の OSCS の *N*-アセチル基のシグナルは 2.183~2.187 ppm に低磁場シフト (ヘパリンナトリウム, 2.15 ppm 付近) することが明らかになった. また, ヘパリンナトリウム中の OSCS に比べて, ヘパリ

Table 1 ¹H-NMR によるヘパリンカルシウム中の OSCS の限度試験の共同検定結果

機関 (装置 MHz)	OSCS (%)	ヘパリンの <i>N</i> -アセチル基		OSCS の <i>N</i> -アセチル基		¹³ C-サテライト ピーク (ppm)
		(ppm)	S/N	(ppm)	S/N	
A (400)	0.5	2.054	982	2.185	18	1.893 及び 2.212
	10	2.052	942	2.184	132	1.893 及び 2.212
B (500)	0.5	2.053	285	2.183	5*	1.923 及び 2.182
	10	2.052	291	2.185	64	1.923 及び 2.182
C (500)	0.5	2.051	287	2.180	5*	1.921 及び 2.180
	10	2.051	218	2.184	74	1.921 及び 2.180
D (600)	0.5	2.052	1848	2.187	18	1.943 及び 2.158
	10	2.052	1442	2.184	525	1.943 及び 2.157

* ¹³C サテライトピークを含む