

特性解析に加えて参照とする先行バイオ医薬品との品質特性の比較試験が求められる。基本的なコンセプトとして、品質特性に関して先行バイオ医薬品との高い類似性を示すことにより、先行バイオ医薬品の非臨床データや臨床データに関する経験を利用することが可能となる。すなわち、非臨床試験や臨床試験を通じて先行バイオ医薬品との同等性を「確認する」という試験のデザインが可能となる。

品質特性の同等性・同質性の評価に当たっては、目的物質、目的物質関連物質、目的物質由来不純物、工程由来不純物を含めた品質特性に関して、対照とするバイオ医薬品とバイオ後続品との類似性の評価を行うことが求められる。糖タンパク質医薬品のように目的物質に不均一性がある場合には、その不均一性の同等性を評価する必要がある。また製品によっては目的物質と目的物質関連物質とを明確に区別できない場合も多く、そのようなケースでは、全体のプロファイルと比較することもやむを得ないであろう。

一方、工程由来不純物については製法そのものが異なると想定されることから、差異があることを前提とした対応を行うことが合理的である場合が多い。すなわち、工程由来不純物については類似性を評価するというよりも、どのような差異があるのかを明らかにし、その差異が臨床上の安全性に及ぼす影響を独自に評価する方が妥当なケースも多いと考えられる。

構造解析では一般に原薬を用いた試験が行われるが、参照とする先行バイオ医薬品の原薬の入手は困難な場合が多く、多くの場合、市場から入手した先行バイオ医薬品製剤を用いて試験を行うか、あるいは製剤から抽出した検体を先行バイオ医薬品の原薬として用いることが想定される。しかし、製剤を用いて比較試験を行う場合、例えば製剤に含まれている添加剤が、目的物質関連物質や目的物質由来不純物のピークに重なってしまい、誤った判断をする可能性がある(図5)。このような可能性が想定される場合には、各クロマトグラフ溶出フラクションを、ウエスタンブロッティングやELISA等の免疫学的手法を用いて解析することも有用である。

一方、先行バイオ医薬品製剤から抽出精製を行う場合にはその抽出法の有用性を評価しておく必要がある。どのような抽出法を用いるべきかについてはそれぞれの製品ごとに異なると想定されるが、最も注意すべき点は抽出操作によって先行バイオ医薬品の品質特性を構成する目的物質、目的物質関連物質、目的物質由来不純物、工程由来不純物等のプロファイルの同等性が担保されていることが必要である。

先行バイオ医薬品製剤を市場から入手する場合、可能であれば複数ロットを用いて品質特性に関する比較試験を行うことが有用と考えられるが、市場での入手には限界があり、必ずしも代表的なロットが得られるわけではないことに注意を払う必要がある。また、製剤のロットが異なっても原薬のロットが同一の場合も考えられる。

先行バイオ医薬品原薬の入手の困難さや、製剤のみでは必要と考えられる全ての品質特性比較試験を実施することが難しいと考えられる。従って、全ての物理的・化学的な比較試験の実施が求められているわけではない。

物理化学的試験と異なり生物活性の比較試験は、製剤でも十分適用可能と考えられ、かつ多くのケースで生物活性が高次構造の差異を反映することが多く、可能な限り複数の方法を用いて生物活性の比較試験を実施することが望ましい。特にタンパク質ドメインごとに機能の異なる生物活性を持つ製品では、それぞれの生物活性を比較評価することにより、構造上の類似性を評価できる。

また、免疫反応性の比較を行うことにより構造的差異(重合体や分解の差異)についての情報やアジュバント効果のある不純物の評価に有用な情報が得られることもある。

品質特性解析の比較試験を通じて認められた先行バイオ医薬品との差異が、有効性や安全性にどのような影響があるかを評価し、その結果に基づいて非臨床・臨床で実施すべき試験をデザインすることが求められる。しかし、品質特性の差異が大きい場合には、再度製法を見直す必要も考えられる。あるいは、バイオ後続品としての開発の

可能性も検討すべきであろう。

規格試験法

規格及び試験方法は、ICH Q6B ガイドラインを参考に、特性解析結果及び対照とした先行バイオ医薬品との同等性／同質性評価データに基づき設定することになるが、必ずしも先行バイオ医薬品と同じ規格を設定する必要は無い。むしろバイオ後続品としての品質の恒常性を担保することが重要な場合が多い。例えば、特定の目的物質由来不純物の含量がバイオ後続品の方が少ない場合、品質の恒常性の観点から実測値に基づいた規格を設定すべきであろう。規格試験法の設定では、製造工程管理試験との相互補完性にも考慮し、合理的に試験を設定することが有用である。

C-3-2-4 非臨床試験

非臨床試験では、対照バイオ医薬品と比較評価することが適切と考えられる薬理学試験と、不純物の安全性評価のようにバイオ後続品のみを対象として試験を行うのが合理的な場合がある。すなわち、目的物質関連不純物や工程由来不純物に関しては、製造工程が異なることから不純物プロファイルも異なると考えられ、対照バイオ医薬品との比較を行うことにより、確立した製法の特徴を考慮し、不純物そのものの特性を評価した上で独自に安全性評価を行うことが合理的と考えられる。

ただし、不純物プロファイルに差異があることを前提として、対照バイオ医薬品との安全性を比較するというアプローチを選択することも開発戦略の一つになりえる。

指針では、毒性試験として反復投与毒性試験を求めているが、単回投与毒性試験のデータは反復投与毒性試験の中で得られるとの考え方に基づいている。

反復投与毒性試験の結果や先行バイオ医薬品で得られている有効成分等に関する情報から、特に必要と判断されない限り、バイオ後続品について、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、その他の通常の非臨床安全性試験の必要性は低いと考えられる。

先行バイオ医薬品を参照として薬理作用が同等／同質であることの比較試験の実施が求められる。品質特性解析試験として実施したインビトロ生物活性試験のデータを、薬理試験として利用することも可能な場合があると考えられる。例えば、細胞増殖活性や細胞分化誘導活性が臨床効果と密接に関連している場合などが考えられる。また臨床効果とは直接関連しない場合でも受容体結合活性や抗ウイルス作用試験なども、有用なインビトロ薬理試験となりえる。

一方、エリスロポエチンやフォリトロピンなどの糖タンパク質医薬品のように、糖鎖が体内動態に大きく影響するような場合など、インビトロ生物活性がインビボ活性と相関しないことが知られている。このような製品では、インビボ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／同質性を比較することが必要となる(山口分担研究報告書図6参照)。

C-3-2-5 臨床試験

バイオ後続品の開発では、品質特性及び非臨床試験結果のみによって、対照バイオ医薬品との同等性／同質性を評価することは困難と考えられ、原則的に臨床試験により同等性／同質性を評価することが必要となる。臨床での有効性評価に当たっては、先行バイオ医薬品との同等性・同質性の確認が主な目的となる。また臨床試験の実施に当たっては、品質特性、非臨床試験結果、並びに対照バイオ医薬品との比較データ等に基づいた上で、参照とする先行バイオ医薬品に関する種々の知見も考慮して、必要かつ合理的な試験をデザインすることになる。

臨床試験では、まず、薬力学的試験(PK 試験)、薬物動態試験(PD 試験)、あるいは PK/PD 試験を、参照とする先行バイオ医薬品と比較して実施することになる。原則的に、対照とする先行バイオ医薬品と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ことが求められる。しかし、長半減期あるいは抗体産生が起り得るバイオ後続品では、健常人を対象としたクロスオーバー試験が不適切である可能性もある。このようなケースでは、健常

人ではなく患者を対象としてクロスオーバー試験を実施することになるであろう。

このような試験により、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と結論できる場合には、それ以上の臨床試験を省略できる場合もありえる。

有効性に関する比較臨床試験の実施に当たっては、参照とする先行バイオ医薬品との同等性を確認するために必要な症例数を設定し、臨床的に確立されたエンドポイントを用いることが求められる。さらに、試験の実施に先立ち同等/同質とする許容域をあらかじめ設定し、その妥当性の説明が求められる。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。

比較臨床試験で求められる被験者数については、それぞれの製品ごとに異なるが、試験のデザインによっても必要な被験者数は異なる。参考までに、EMEA で承認されたバイオシミラー製品(バイオ後続品)の臨床試験での被験者数を表 2 に示した。必ずしも、これらの被験者数を参考にする必要はないが、同種の製品でも被験者数は大きく異なっている。また、PK 試験や PK/PD 試験においては、単一投与量のみならず複数の投与量での評価を行っているケースもある。さらに、目的とする効能のみならず参考とする他の効能についての臨床試験データが参考データとして提出されている。

さらに、有効性の比較臨床試験において得られたデータでは安全性に関するデータが不足する場合には、独自に安全性に関するデータを得る必要がある場合も想定される。この場合、安全性に関する臨床試験を追加で実施することが必要となるが、その場合、先行バイオ医薬品との比較試験が必ずしも求められるわけではない。また、バイオ後続品にのみ含有される工程由来不純物について安全性の懸念がある場合には、独自に安全性に関する臨床試験の実施を考慮すべきであろう。

なお、対照バイオ医薬品が複数の効能・効果を持つ場合、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、先行バイオ医薬品の他の効能・効果をバイオ後続品に外挿することが可能となる場合があると考えられる。

C-3-2-6 製造販売後調査

バイオ後続品の開発では、ほとんどの場合、相当規模の臨床試験が必要になると考えられるが、それでも全ての情報が得られるわけではない。特に、バイオ後続品は先行バイオ医薬品と不純物プロファイルや免疫原性に差異がある可能性があり、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ことが必要と考えられる。特に、先行バイオ医薬品が複数の効能を持っており、臨床試験を実施せずに外挿により承認された効能については、市販後調査の中で有効性に関するデータの収集が必須となるであろう

また、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るので、対照とする先行バイオ医薬品やそれと同一の有効成分を持つ、いわゆる同種・同効医薬品をバイオ後続品に変更可能であるが、一連の治療期間内で混用することは基本的に避けることが望ましい。

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では、生薬ショウキョウ、ショウキョウ末及びカンキョウに TLC を用いた確認試験法が設定された。しかし、これら生薬類に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。

一方、現在日本に流通している生薬は、ほとんどが中国などの外国からの輸入品であるが、その品質は差が大きい。生薬は植物や動物などの天然物由来であるため、その品質は産地や栽培条件などにより大きく左右されてしまう。有効成分が低含量であったりする場合は用いる漢方処方薬効に大きく影響する。また、生薬は特に収穫後の加工調整の段階での加熱や乾燥方法などによ

っても大きく成分が変化するため、当センターで栽培した植物の収穫直後からの各種乾燥条件などによる成分の違いなどを詳しく検討し、生薬ごとの最適な加工条件（修治条件）を検討することにより、国内流通生薬の品質保持と管理に役立つものと考えられる。

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、ショウキョウ及びショウキョウ末の成分含量測定法設定に関しては、ショウキョウ各種市場品 64 検体及びショウキョウ末各種市場品 29 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[6]-ギンゲロールの含量を測定した。またカンキョウの成分含量測定法設定に関しては、カンキョウ各種市場品 45 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[6]-ショウガオール含量を測定した。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、生薬の調整、加工条件による含有成分パターンの変化については、変化第十五改正日本薬局方第一追補に記載されたヤクモソウに関して検討を行った。生薬ヤクモソウ（益母草）は、シソ科（*Labiatae*）のメハジキ *Leonurus japonicus* Houttuyn または *Leonurus sirbiricus* Linne の花期の地上部と規定されている。生薬ヤクモソウは駆お血、強壯、通経、止血、活血などの薬効があり、漢方処方にも配合されている。今回、メハジキの地上部を収穫後に各温度にて乾燥し、成分の変化を調べた。

C-4-1：ショウキョウの成分含量測定法に関する検討

ショウキョウ市場品64検体中の[6]-ギンゲロール含量（乾燥減量換算後）は、0.20～0.93 %（平均0.49 %）、ショウキョウ末中の[6]-ギンゲロール含量（乾燥減量換算後）は0.12～0.92 %（平均0.38 %）であった。また、システム適合性試験における理論段数は5187～16141、シンメトリー係数は0.51～1.14であり、相対標準偏差は0.17～0.88であった。（川原分担研究報告表1、表2、表4、図1を参照）

C-4-2:カンキョウの成分含量測定法に関する検

討

カンキョウ市場品 45 検体中の[6]-ショウガオール含量（乾燥減量換算後）は、0.09～0.59 %（平均 0.20 %）であった。また、システム適合性試験における理論段数は 9240～21043、シンメトリー係数は 0.88～1.12 であり、相対標準偏差は 0.02～0.88 であった。（川原分担研究報告表 3、表 5、図 2 を参照）

C-4-3:ヤクモソウの加工調製法に関する検討

メハジキの TLC 上で葉の成分において、一部 10%硫酸加熱で濃く呈色するスポットに明確な差が認められた。HPLC における検討では、PDA において一部差違が認められた。その後、当該成分の単離を目的とし、各種クロマトグラフィーにより精製を行ったが、化合物の単離には至っていない。さらに筑波研究部の圃場にて栽培されたメハジキ収穫物について日本薬局方の確認試験法を適用した結果、指標成分であるスタキドリンが確認された。（川原分担研究報告図 4、図 5 を参照）

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、全世界で多くの医薬品に共通に使われ、流通が極めて国際的であるため、先進諸国の薬局方に添加剤の品質に関する情報を規格として収載する意義は極めて大きく、国際調和が強く望まれている。60 余りの添加剤について調和作業が続けられ、日局 15 局およびその第一追補において 30 品目近くの添加剤が JP、EP、USP で調和された品目として収載されている。医薬品添加剤は、人体に対する作用が緩和ないしは無害であるという特徴とともに、医薬品製剤の必須の構成成分として、薬物療法におけるコンプライアンスや、有効成分の体内送達を確保するという重要な役割を全面的に担っている。そして、それらの役割を演じているのは、医薬品添加剤の持つ特異的な物性（機能性関連物性、functionality related characteristics、FRC）であることから、近年、薬局方国際調和を通じてそれらの FRC の、薬局方各条での取扱い、さらには規格化することの可否などについての議論が

盛んに行なわれるようになった。

2008年に発行されたEP6.0において、国際調和品目である結晶セルロースやヒプロメ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が表明してきたFRCへの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。USPは2007年のPharmacopeial Forumにおいて、FRCに関連するGeneral Information Chapterとして「<1059> Excipient Performance」の改定作業の途中経過を公表したのに引き続き、2009年のPharmacopeial Forumに最終案に近い形の提案を行っている。

本年度の研究として、USPが2009年に提案した<1059> Excipient Performanceについて、精査し、FRCに対するEPの対応と比較検討することにより、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: USPにおけるFRCの取り扱いに関する新たな提案

USPは昨年度の報告書に記したように2007年末に発行されたPharmacopeial Forum Vol. 33 (6) (2007)において「Excipient Performance <1059>」の提案を行った。この提案はRevision作業を活性化するため、意見募集を目的とし、その内容は改定作業の方向性および途中経過を示すものであった。その提案に引き続き、昨年発行されたPharmacopeial Forum Vol. 35 (5) (2009)において、GENERAL CHAPTERSのGeneral Information <1059> EXCIPENT PERFORMANCEが提案された。このchapterの作成はExcipient General Chapters、Excipient Monographs 1、Excipient Monographs 2の3つの専門委員会の委員から構成されるExcipient Performance Joint Advisory Panelが行ったものである。

Pharmacopeial ForumのBriefingにおいて、本chapterの提案目的が記されている。一般的に、医薬品製剤は薬理効果を有する薬効成分と添加剤からなる。添加剤は製剤の製造、安定性、機能に重要な役割を果たす。製剤機能の一定性

(consistent performance)を保証するのに十分な添加剤の特性というものは剤形、個々の製品、製造工程、必要とされる機能に依存し、変わってくる。National Formulary (NF)の添加剤の各条には添加剤のidentity、quality、purityを確認するため規格と試験法が記載されている。これは物質としてのidentityを決めるのを目的としている。従って、添加剤各条に製剤の機能にcriticalな添加剤の特性に関する試験法や規格を規定することはできない場合もある。このようなFRCに関する不備を補うためにこのchapterが提案された。

その内容は、Introductionに続いて、剤形により大きな分類がなされ、剤形ごとに添加剤の使用目的、機能が分類されている。最初に述べられている剤形は錠剤・カプセル剤であり、これらの剤形に必要な添加剤の使用目的として、賦形剤(Diluent)、結合剤(Binder)、崩壊剤(Disintegrant)、滑沢剤(Lubricant)、流動増進剤/抗凝結剤(Glidant and/or Anticaking Agent)、着色剤(Coloring Agent)、コーティング剤(Coating Agent)、可塑化剤(Plasticizer)が記されている。分類された添加剤の使用目的ごとに添加剤の機能の定義、機能を発現するメカニズム、物理的特性、化学的特性、関連するGeneral Chaptersの項目名と番号、場合によっては追加の情報が記されている。2007年の提案では使用目的、機能の分類に当てはまる添加剤のリストがあったが、今回は削除されている。ある添加剤のFRC関連の試験法にたどりつくためには、まずその添加剤の使用目的、機能をNFのExcipientsの項から探し出し、<1059> EXCIPENT PERFORMANCEを参照する必要がある。また、確認試験、純度試験、定量法については各条を参照しなければならず、煩雑である。EPにおいて、添加剤各条に添加剤の使用目的、機能とそれに関連する一般試験法のリストが記述されているのとは対照的であり、EPの記載方法の方がユーザーフレンドリーかもしれない。しかし、USPにおいては、NFのExcipientsの項において、添加剤がどのような使用目的、機能が既に記されているため、添加剤の使用目的、機能とそれと関連する一般試験法との関連を示す「Excipient Performance

<1059>」を追加する方針をとったものと考えられる。添加剤の機能を試験する新しい試験法が一般試験法に追加されたとき、USP では<1059> EXCIPIENT PERFORMANCE を改定すれば済むが、EP の記載法の場合、新たな試験法に関係するすべての添加剤について改定が必要になる。USP の記載方法の方がフレキシブルかもしれない。

C-5-2: <1059> Excipient Performance にリストされた試験法の JP、EP の一般試験法への収載状況

「<1059> Excipient Performance」には FRC の試験法として有用と考えられる一般試験法がリストされている。Crystallinity Determination by Solution Calorimetry<696>、Color Instrumental Measurement<1061>、Gel Strength of Gelatin<1081>、Tensile Strength<881>、Scanning Electron Microscopy<1181>などは JP や EP にまだ収載されていないが、試験法名を比較する限りにおいて大部分の試験法は三局に既に収載されていると考えることができる。また、一般試験法の国際調和が進行し、錠剤やカプセル剤に用いられる添加剤の FRC 関連の試験項目として重要な位置を占める「比表面積測定法」、「粒度測定法」、「かさ密度及びタップ密度測定法」、「粉体の粒子密度測定法」などの粉体特性に関する試験法は 3 薬局方で同じ試験法である。

しかし、試験項目は同じであっても、方法が異なる場合もある。例えば、Chelating and/or Complexing Agents や Antioxidant の FRC に関連する試験法として鉄試験法がリストされている。JP における鉄試験法は 2,2'-ビピリジルと鉄イオンとの錯体形成による発色を利用しているのに対して、EP や USP ではチオグリコール酸との錯体形成を利用しており、項目名は同じであっても試験法は異なる。国際調和した添加剤のなかで、この鉄試験が規定されている品目にコムギデンプン、トウモロコシデンプン、バレイショデンプン、コメデンプンがある。EP あるいは USP が Coordinate Pharmacopoeia であり、調和前の JP のデンプン類には鉄試験が設定されていない

かったことから、デンプン類の各条の国際調和においては、鉄試験としてチオグリコール酸を用いる方法が採用され、JP においては各条に詳しく試験法を書くことによって対応する必要が生じた。また、錠剤、カプセル剤の結合剤の試験法としてリストされた粘度測定法においても、JP、EP ではキャピラリー法による粘度測定はウベローデ型粘度計を用いることになっている。USP では各条において特定の粘度計を指定する場合もあり、結晶セルロースにおいては「キャノン・フェンスケ型粘度計あるいはそれと同等の粘度計」を用いることになっている。試験項目名が同じであっても個々試験法について 3 局間の比較を十分に行う必要があることは言うまでもないが、FRC 関連の試験法についての国際調和が進めばこのような問題は解決されると思われる。

C-5-3: FRC に関連する試験法の JP への取り込みおよびその国際調和の重要性

添加剤各条の三薬局方の国際調和は、添加剤の調達の国際化、多様化を促すと思われる。しかし、添加剤の FRC は供給元によって大きく変動する場合もあり、また、同一の供給元の製品であっても、バッチ間の変動も大きいと言われている。一定の performance を有する製剤を製造するためには、添加剤の FRC のなかで、製剤の機能に影響を及ぼす critical な特性を明らかにし、最適な処方やプロセスの制御が不可欠である。そのためには、添加剤メーカーとユーザーが同じ物差しを使って、当該添加剤の FRC 特性を試験し、そのデータに基づいてコミュニケートすることが不可欠である。そのためには添加剤各条を調和し、添加剤の化学的特性が一定であることが前提である。それに加えて、三薬局方間での FRC 関連の試験法が調和していることが重要になってくるとと思われる。

C-6: 理化学試験法の改正に関する研究

平成 19 年度の研究により、試料溶液中の Au を DEAE カートリッジに吸着させ、定量的に回収する手法を確立した。また平成 20 年度の研究により、標準溶液で得られた検討内容が実際の生体試料(体毛)においても適用できることが判明

した。そこで、平成 21 年度はラットに金チオリンゴ酸ナトリウムを様々な方法で投与し、体毛中の Au の濃度を測定することにより、金チオリンゴ酸ナトリウムの体毛蓄積度を精査することを目的とする。

なお、金チオリンゴ酸ナトリウムは関節リウマチの治療薬であり、作用機序は不明な点が多いが、人間の場合注射剤として投与される。金チオリンゴ酸ナトリウムは尿中に最も排泄されるため、投与ラットの尿を分析試料とした研究は見受けられるが、体毛を分析試料とした研究は未だ見受けられない。そこで、本研究では採取・貯蓄が容易な体毛に着目し、金チオリンゴ酸ナトリウム投与ラットの体毛中の金属濃度をモニターすることとした。

C-6-1: 薬学動物舎で使用している飼料の分析

(1) 定性分析

溶液化した試料溶液をまず定性分析に供した。その結果、Au は検出されず、B, Na, Mg, Al, Si, P, K, Ca, Ti, V, Mn, Fe, Cu, Zn, Sr, Ba, La の 17 元素が検出された。

(2) 定量分析

定性分析で検出された 17 元素に関して定量分析を行った。検量線作成用標準溶液は多元素分析用として多元素混合溶液とした。この多元素混合標準溶液は元素間の分光干渉及び化学的安定性を考慮して 3 つのグループに分けて調製した。

C-6-2: 飲料水の分析結果

(1) 定性分析

飲料水を定性分析に供した結果、Au は検出されず、Na, Mg, B, Si, K, Ca, V, Sr, Ba, La の 9 元素が検出された。

(2) 定量分析

定性分析で検出された 9 元素に関して定量分析を行った。検量線作成用標準溶液は多元素分析用として多元素混合溶液とした。その結果、動物舎内で使用している飼料及び水からは Au は全く検出されなかった。したがって、動物舎でラットを飼育するに当たって飼料及び水を自由摂取さ

せても飼料及び水からは Au が体毛に移行することは考えらず、本研究に及ぼす影響は全くないものと考えられた。よって、動物舎内における飼育方法に関しては、飼料及び水を自由摂取させることとした。

C-6-3: 金製剤投与後の体毛中 Au の時間変化

まずラットに金チオリンゴ酸ナトリウムを 1 回投与し、投与後どの程度の期間で投与した金製剤が体毛中に移行するのかを調べた。投与後 5 週間で体毛中の Au の濃度は最大となり、その後徐々に減少し、投与後 15 週間で体毛中の Au の濃度がほぼゼロになった。

C-6-4: 金製投与後 1 週間及び 3 週間後のラット体毛中 Au 濃度

前項では金チオリンゴ酸ナトリウムを投与してから 5, 10, 15 週間後の体毛の分析を行い、投与してから 5 週間後の体毛中の Au の濃度が最大となった。しかし、採毛間隔が 5 週間と長かったため、前節の結果だけで「投与後 5 週間で投与した金チオリンゴ酸ナトリウムが最も体毛中に移行する」とは言い切れない。そこで、次に投与してから 1, 3 週間後の体毛の分析を行った。

投与してから 3 週間後の体毛中の Au の濃度が 0.02 ppm、5 週間後の体毛中の Au の濃度が 0.072 ppm であるので、投与してから 3~5 週間の間の体毛中の Au 濃度の増加が最も大きく、投与後 3~5 週間で投与した金製剤が最も体毛中に移行したことがわかった。また、腹部と背部に分けて体毛を採取して分析した結果より、圧倒的に背部より腹部に Au の蓄積が見られることもわかった。

C-6-5: 投与部位と体毛中 Au 濃度

前項では金チオリンゴ酸ナトリウムを投与してから 1 及び 3 週間後の体毛を腹部と背部に採取して分析した。その結果、腹部に選択的に蓄積していることがわかったが、投与部位が腹側の腹腔内投与であったため、投与した金チオリンゴ酸ナトリウムが投与部位周辺に蓄積しているのではないかという可能性があった。このことを確認するため、投与部位を腹側の腹腔内投与から背側

の皮下投与に変更して同様の実験を行った。その結果、背中側から皮下投与した場合においても体毛中の Au 濃度は腹部側が高い結果となった。

C-6-6: 投与量と体毛濃度の分析結果

薬物投与ラットの体毛中の金属濃度から医薬品の摂取状況の把握を可能にするためには投与量と体毛中金属濃度との間に相関関係が成立することが必要不可欠である。そこで、金チオリンゴ酸ナトリウムの投与量を 10, 20, 40 mg/kg と変化させて各々のラット体毛中の Au の濃度を測定し、投与量と体毛中の Au の濃度との間に相関関係が成立するかを検討した。

3匹のラットで検討したが、3匹とも投与量と体毛中の Au の濃度との間に高い直線性が得られた。

C-6-7: 連続投与と体毛中の Au 濃度との関係

金チオリンゴ酸ナトリウムを人間に投与する場合のことを考えると、投与は 1 回ではなく複数回に及ぶ。よって、本研究でもその場合のことを想定して複数回の金チオリンゴ酸ナトリウムの投与により体毛蓄積度にどのような差がでてくるのかを検討しておく必要がある。よって、本項では金チオリンゴ酸ナトリウムを 6 日間連続投与することにより、単回投与時の体毛中の Au の濃度と比較して蓄積が見られるかを検証した。

単回投与時と比較して、連続投与時には明らかに体毛中に Au の蓄積が顕著であることがわかった。

C-7: 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品質評価手法として浸透し、経口固形製剤の処方変更の生物学的同等性試験ガイドラインや含量が異なる経口固形製剤の生物学的同等性試験ガイドラインにおいても極めて重要な役割を果たしてきた。

USP では、経口固形製剤の溶出試験法 <711>Dissolution に加えて、<724>Drug release が記載されており、4 種の装置が <711>に、2 種の装置が <724>に記載されている。同様に、EP では、2.9.3.Dissolution test for solid dosage forms の他、2.9.4.Dissolution test for transdermal patches が記載され、2.9.4.には 2 種の装置、その他 Extraction cell

が Paddle over Disk とほぼ同じ用途で膜を挟みやすいように設計されたものが記載されている。EP にはこのほか、2.9.42. Dissolution test for lipophilic solid dosage forms が記載され、特殊なフロースルーセルが、油溶性基剤を用いた坐剤用に開発されている。

我が国の、局所皮膚適用製剤の後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドライン（薬食審発第 0707001 号）では、標準製剤の選定のために *in vitro* 溶出試験の適用が示されており、「I. 標準製剤と試験製剤では、原則として、先発医薬品の 3 ロットについて、*in vitro* 放出試験を行い、中間の放出性を示すロットの製剤を標準製剤とする。*In vitro* 放出試験には、製剤及び薬物の特性に応じて、パドルオーバーディスク法、拡散セル法など、先発医薬品のロット間における放出速度の差を適切に評価できる方法を用いる。試験は $32\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ で実施し、試験液には、水又は水-アルコール混液等を用いる。製剤と試験液を隔てる膜を用いる場合には、膜透過が律速とならない膜を用いる。繰り返し数は 6 以上とする。*In vitro* 放出試験が不適切な場合には、それに代わる製剤の特性に応じた適当な物理化学的試験を行い、中間の特性を示したロットの製剤を標準製剤とする。」と記されている。

さらに、パブリックコメントを求めた状態で、まもなく発出される予定の局所皮膚適用製剤の処方変更のための生物学的同等性試験ガイドラインでは、変更のレベルが低い場合には、放出試験で同等性を確認できることが記載されている。放出試験に関しては、製剤からの薬物の放出性を評価する試験であると定義され、装置は、パドルオーバーディスク法、拡散セル法等を使用し、試験液の温度は $32\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 、試験液としては、基本的には pH5~7 の緩衝液(イオン強度 0.05 モル)を用いるが、基本試験液以外の試験液を用いる場合は、イオン強度の変更、界面活性剤の添加が認められ、水又は pH5~7 以外の緩衝液等を用いることも認められている。パドルオーバーディスク法の場合には回転数は 50 回転と規定されている。製剤と試験液を隔てる膜を用いる場合に限って、水-アルコール混液、有機溶媒等を用いることもできる。条件設定に当たっては、製剤の形状の変化をもたらさないように試験条件を選択し、製剤

と試験液を隔てる膜を用いる場合は、透過過程が律速とならない膜を用いることが重要とされている。

そこで本年度は、製剤の試験方法について情報を得ることを目的として、経皮吸収製剤であるツロブテロール貼付剤を選び、その規格試験法の実態と試験法による変動の可能性等について考察した。

C-7-1: 全製剤における試験結果

ツロブテロールテープの13製剤のそれぞれの規格試験法に従った放出プロフィールを調べた。規格試験法はA~Gの7種類に分かれており、同じ規格設定されているものでは、例えばG-1、G-2、G-3間では放出挙動はほぼ類似していた。試験法は、パドルオーバーディスク法に準じるものがほとんどであり、シリンダー法が製剤Aのみで採用されていた。試験液のpHは若干異なっていた。パドルオーバーディスク法で、回転数は50回転、試験液温度は32°Cである。製剤Aではシリンダー法を、製剤D-1、D-2ではFDA法であるテフロンメッシュ付き時計皿を用いていた。また、製剤Cでは唯一膜を使用していたが、疎水性膜であった。試験法は若干異なるものの、大きく比較して、放出の制御が比較的遅い製剤B、製剤D、製剤G、製剤A、製剤E、製剤Fの順に放出が速い結果となった。製剤Cは一見放出は遅いが、これは疎水性膜を使用しているため膜透過が律速となっているため、試験法として好ましくない。また、製剤Aでは、pH4.2の緩衝液を使用しているが、これも放出を遅くしている要因となっていて、実際には放出特性は製剤Fと同程度であった。

C-7-2: シリンダー法とパドルオーバーディスク法による放出性の差

C-7-1の製剤Aでは、シリンダー法による、pH4.2の緩衝液を使用した放出挙動であった。そこで、製剤Aについて、pH4.2の緩衝液を用いたパドルオーバーディスク法、及び水を試験液としたパドルオーバーディスク法で試験を実施し、結果を比較した。試験液が同じ場合には、シリンダー法でもパドルオーバーディスク法でも、放出

挙動に大きな差は認められなかった。また、試験液を水とすると、放出が速くなった。これはpH及びイオン強度が低くなったために、放出を制御するテープ基剤に影響を及ぼすのではないかと考えられた。従って、製剤Aは試験液が水の場合にはかなり放出が速いグループに属することが明らかであった。

C-7-3: FDA法とパドルオーバーディスク法による放出性の差

製剤D-1及び製剤D-2では、FDA法と呼ばれているテフロンメッシュを時計皿に重ねてプラスチックのピンで止めた形のパーツをベッセル内に設置して、パドルで攪拌する方法が採用されている。そこで、使用するパーツの影響をみるため、パドルオーバーディスク法による試験を実施して結果を比較した。その結果、差は小さいが、全体としてややFDA法で放出率が大きくなる傾向が認められた。パドルの位置はいずれの場合も製剤の上2.5cmに合わせており、試験結果に大きな差が生じるとは考えにくい。FDA法における時計皿はかなり大きく、ベッセルの下部を覆う形となるため、ベッセル下部での試験液の攪拌が充分でない可能性が考えられ、やや放出率が大きめで推移するのではないかと思われた。

C-7-4: 使用する膜特性の影響

製剤Bでは、パドルオーバーディスク法に準じて四角の金属板を使用しているが、製剤の上に疎水性の膜をかぶせる方法となっている。同等性ガイドラインでは、膜を使用する場合には、膜透過が律速となつてはならないと規定している。そこで、使用する膜の影響を検討するため、同様の素材の親水性膜を用いて試験を行った。

親水性膜を使用した場合には、疎水性膜を使用した場合よりもかなり放出が速くなり、膜透過が大きな影響を与えていることが明らかであった。また、疎水性膜の場合には、水を透過させるためには通常メタノール中にいれて膜を完全にメタノールで潤した後、水中に入れることにより、水透過性を親水性膜と同程度にすることができる。そこで、疎水性膜をメタノール中で超音波照射後、水に浸して試験に使用したところ、親水性膜を使

用した場合と同程度の放出率を示した。また、親水性膜を用いる通常のディスクを使用したパドルオーバーディスク法でも、類似の結果が得られ、用いるディスク形状（円形、四角、時計皿様）の影響は特に認められなかった。また、疎水性膜と常のディスクを使用したパドルオーバーディスク法との組み合わせでは、金属板使用時と類似した結果が得られ、使用したパーツの差もほとんど無かった。

C-8： 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、医薬品を巡る環境の変化に対応した日本薬局方の改正に資するための調査研究を行ってきた。

今年度は、JP に収載されている化学薬品のうち、本体がアミン誘導体でありその多価酸塩がJP 収載品目になっている場合、および、本体が有機酸誘導体などでありその多価塩基塩がJP 収載品目になっている場合に生じている、構造式、化学名、組成式、分子式の不整合について調査研究を行った。

C-8-1： 本体がアミン誘導体でありその多価酸塩

が JP15 収載品である事例の調査

本体がアミン誘導体でありその多価酸塩が JP15 に収載されている例を調査し、以下に示す。

・アトロピン硫酸塩水和物

JP15 に収載されている「アトロピン硫酸塩水和物」の化学構造式、分子式、分子量、化学名、CAS 登録番号を図 1 に示す。

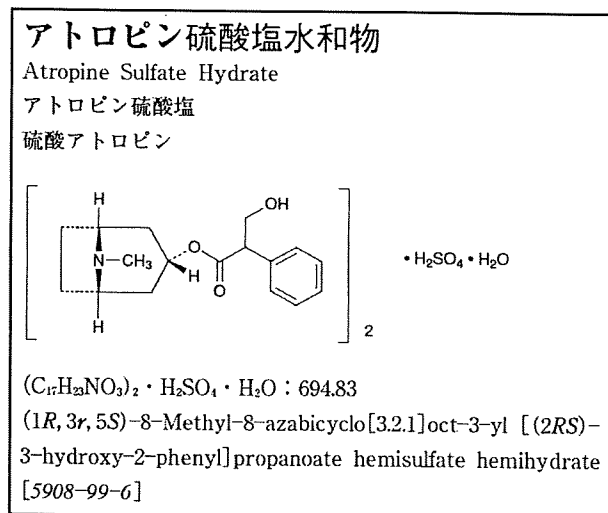


図 1 JP15 に収載された「アトロピン硫酸塩水和物」の記載

JP15 収載の「アトロピン硫酸塩水和物」は、化学構造式から、二価酸である硫酸一分子と三級アミンであるアトロピン二分子の塩の一水和物であることがわかる。分子式、分子量もそれに対応した記載になっている。しかし、「アトロピン硫酸塩水和物」の化学名は、アトロピン一分子を示す化学名の後ろに「hemisulfate hemihydrate」が付いており、アトロピン一分子の二分の一硫酸塩二分の一水和物として命名されている。すなわち、JP 収載の「アトロピン硫酸塩水和物」では、化学名がアトロピン一分子に対する記載となっているのに対し、構造式、分子式、および、分子量は、その二倍体が記載されている。

・イフェンプロジル酒石酸塩

JP15 に収載されている「イフェンプロジル酒石酸塩」の化学構造式、分子式、分子量、化学名、CAS 登録番号を図 2 に示す。

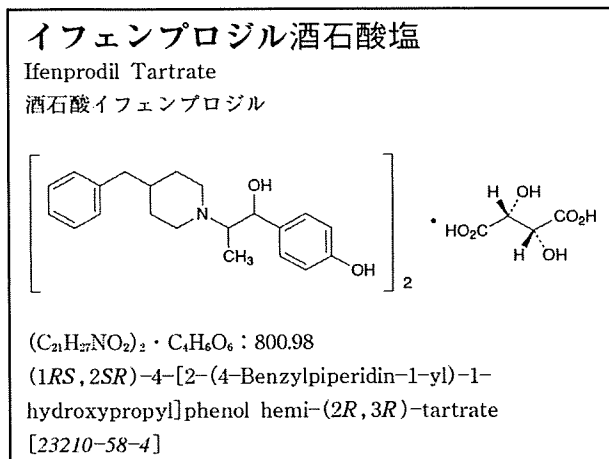


図2 JP15 に記載された「イフェンプロジル酒石酸塩」の記載

「イフェンプロジル酒石酸塩」は、三級アミンであるイフェンプロジルの酒石酸塩である。先に示した「アトロピン硫酸塩水和物」と同様に、構造式、分子式、および、分子量が、イフェンプロジル二分子に対する記載になっているのに対して、化学名はイフェンプロジル一分子に対する記載となっている。

・キニーネ硫酸塩水和物

JP15 に記載されている「キニーネ硫酸塩水和物」の化学構造式、分子式、分子量、化学名、CAS 登録番号を図3に示す。

「キニーネ硫酸塩水和物」は、三級アミンであるキニーネの硫酸塩水和物である。先に示した「アトロピン硫酸塩水和物」と同様に、構造式、分子式、および、分子量が、キニーネ二分子に対する記載になっているのに対して、化学名はキニーネ一分子に対する記載となっている。

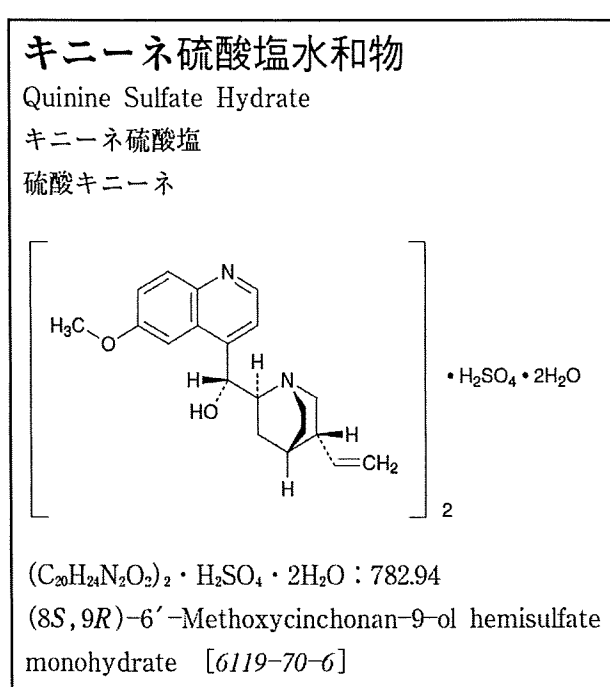


図3 JP15 に記載された「キニーネ硫酸塩水和物」の記載

・その他の例

このような例は、上に示した以外にも、「エルゴタミン酒石酸塩」「オルシプレナリン硫酸塩」「キニジン硫酸塩水和物」「サルブタモール硫酸塩」「テルブタリン硫酸塩」「バメタン硫酸塩」「ペンブトロール硫酸塩」「ホルモテロールフマル酸塩水和物」「メトプロロール酒石酸塩」など、酒石酸、硫酸、フマル酸などの多価塩基塩が JP 収載品目である場合に見られる。

2) 本体が有機酸誘導体でありその多価塩基塩が JP15 収載品である事例の調査

本体が有機酸誘導体でありその多価塩基塩が JP15 に記載されている例を以下に示す。

・ベンジルペニシリンベンザチン水和物

JP15 に記載されている「ベンジルペニシリンベンザチン水和物」の化学構造式、分子式、分子量、化学名、CAS 登録番号を図4に示す。

「ベンジルペニシリンベンザチン水和物」は、カルボン酸誘導体であるベンジルペニシリンと二価塩基であるベンザチンとの塩の水和物である。構造式、分子式、および、分子量が、ベンジ

ルペニシリン二分子に対する記載になっているのに対して、化学名はベンジルペニシリン一分子に対する記載となっている。

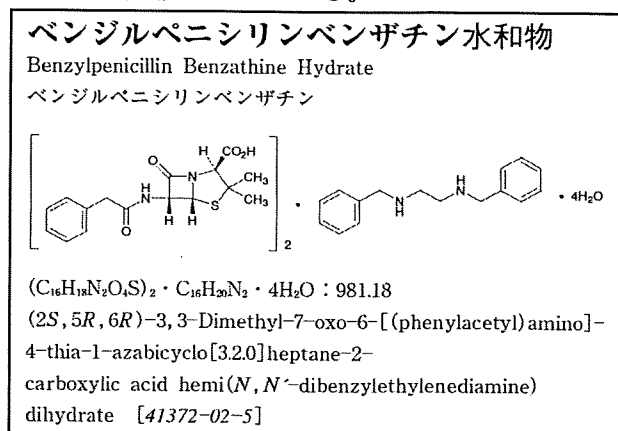


図4 JP15 に記載された「ベンジルペニシリンベンザチン水和物」の記載

・アミノフィリン水和物

JP15 に記載されている「アミノフィリン水和物」の化学構造式、分子式、分子量、化学名、CAS登録番号を図5に示す。

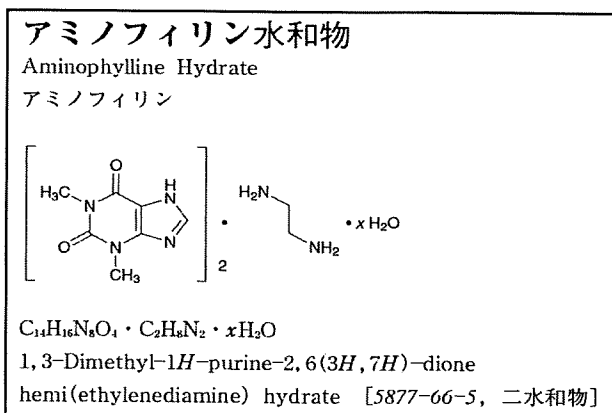


図5 JP15 に記載された「アミノフィリン水和物」の記載

「アミノフィリン水和物」は、テオフィリンに1/2当量のエチレンジアミンを加えたものであるが、先に示した「ベンジルペニシリンベンザチン水和物」と同様に、構造式、分子式、および、分子量が、テオフィリン二分子に対する記載になっているのに対して、化学名はテオフィリン一分子に対する記載となっている。

3) 諸外国の公定書 (USP, EP) に見られる記

載の調査

1)、2) でとりあげた医薬品が USP や EP にどのように記載されているかを調査した。

・USP の記載

図6に、USP に記載された「Quinine Sulfate (キニーネ硫酸塩水和物)」の記載を示す。USP は、JP と同じく、構造式、分子式、および、分子量は、キニーネ二分子に対する記載になっている。化学名は、「(2:1)(salt)」表記になっており、これもキニーネ二分子に対する記載となっている。

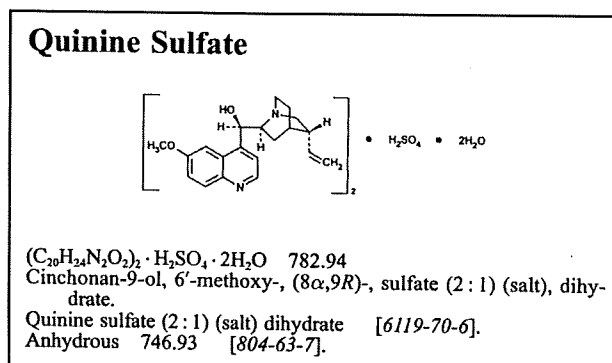


図6 USP に記載された「Quinine Sulfate」の記載

同じく、USP に記載された「Aminophylline (アミノフィリン)」の記載 (図7) も、構造式、分子式、および、分子量は、アミノフィリン二分子に対する記載になっている。化学名は、「(2:1)」表記が使われており、アミノフィリン二分子に対する記載となっている。

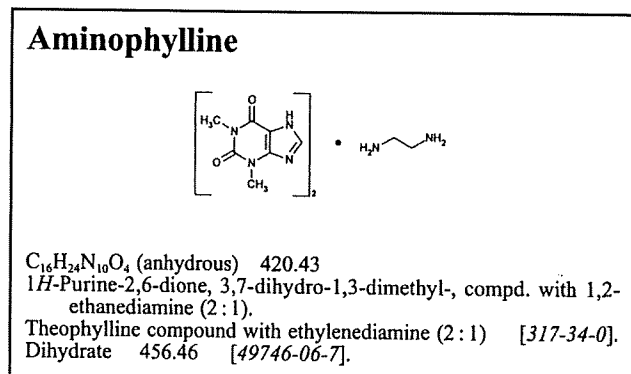


図7 USP に記載された「Aminophylline」の記載

・ EP の記載

図 8 に、EP に記載された「Atropine Sulphate (アトロピン硫酸塩水和物)」の記載を示す。EP の記載は、JP や USP と同じく、構造式、分子式、および、分子量は、アトロピン二分子に対する記載になっている。化学名も、bis を用いてアトロピン二分子に対する記載となっており、統一がとれている。

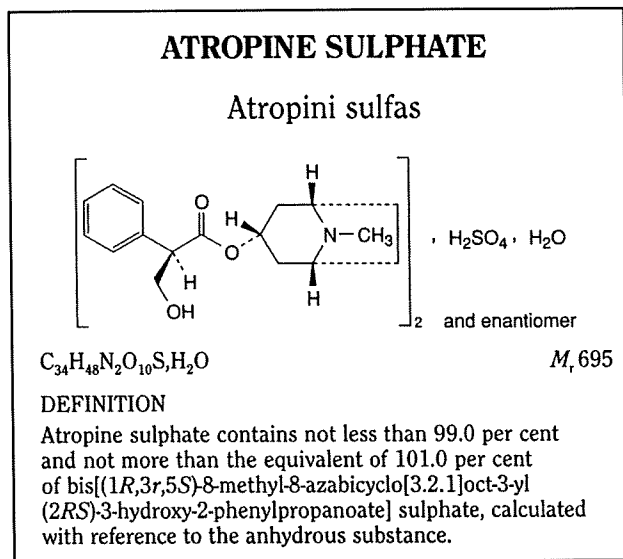


図 8 EP に記載された「Atropine Sulphate」の記載

図 9 に EP に記載された「Quinine Sulphate (キニーネ硫酸塩水和物)」の記載を示す。EP の記載は、「Atropine Sulphate」の記載と同様に、すべてがキニーネ二分子に対する表記で統一されている。

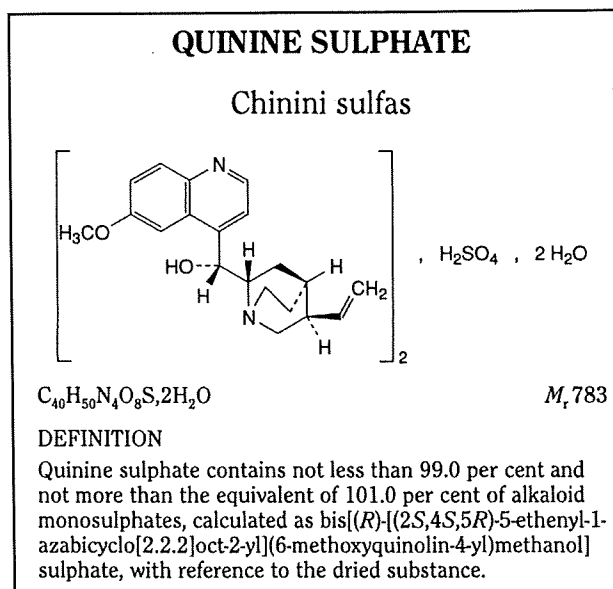


図 9 EP に記載された「Quinine Sulphate」の記載

この他の記載医薬品についても、同様の記載がなされていることを確認した。

4) 多価有機酸あるいは多価塩基との塩が医薬品として記載されている場合の記載様式

JP、USP、EP について調べた結果を、表 1 にまとめた。表 1 では、二価有機酸あるいは二価塩基の塩の場合を示し、「2 倍体」とは活性本体化合物 2 分子を基準にした記載を、「1 倍体」とは活性本体化合物 1 分子を基準にした記載のことを示す。

表 1 JP、USP、EP における医薬品が多価有機酸あるいは多価塩基との塩である場合の表記

	JP	USP	EP
構造式	2 倍体	2 倍体	2 倍体
分子式	2 倍体	2 倍体	2 倍体
分子量	2 倍体	2 倍体	2 倍体
化学名	1 倍体	2 倍体	2 倍体

表 1 からわかるように、多価塩化合物の表記は、JP、USP、EP ともに、活性本体部分が 2 倍体とする記載方法が用いられ、国際的に調和している。唯一違うのが、JP であり、JP の化学名のみが活性本体部分を 1 倍体として記載している。

具体的に、「キニーネ硫酸塩水和物」を例にとると、

JP は、

(9*S*)-6'-Methoxycinchonan-9-ol hemisulfate monohydrate

USP は、

Cinchonan-9-ol, 6'-methoxy-, (8*S*,9*R*)-, sulfate (2:1)(salt), dihydrate

EP は、

bis[(*S*)-{(2*R*,4*S*,5*R*)-5-ethenyl-1-azabicyclo[2.2.2]oct-2-yl}(6-methoxyquinolin-4-yl)methanol] sulfate, with reference to the dried substance

と記載されている。結果として、JP は、構造式と化学名が不一致になっており、国際調和の観点からは、USP のように「(2:1)」表記を用いるか、EP のように「bis」表記を用いて、化学名も構造式に合わせた 2 倍体表記にすることが好ましいように思われる。

5) 多価塩化合物を倍体表記することによって生じる問題点

4) において、国際調和の観点からは、多価塩化合物を倍体表記に統一することが望ましいと述べた。しかし、“なぜ医薬品の本体部分を敢えて倍体表記するのか”という疑問が残る。たとえば、JP15 には図 10 に示す「キニーネ塩酸塩水和物」が記載されている。「キニーネ塩酸塩水和物」は、一価の酸である塩酸の塩であるため、今回検討しているような問題は生じない。よって、活性本体であるキニーネ分子に対する記載がなされている。その結果、「キニーネ塩酸塩水和物」の分子量は 396.91 となり、「キニーネ硫酸塩水和物」の分子量 782.94 とは大きく異なり、両者の分子量の差は 2 倍にちかい。JP を含めて局方は医薬品の基準書であることを考えると、なぜ“活性本体部分を基準 1 とする表記法”がとられなかったのか根拠が不明である。

JP に限らず局方では記載された分子量が基準となって、定量法の記載がなされる。すなわち、分子量の値は医薬品の定量計算式の中に組み込まれている。従って、医薬品の分子量の値は、国際的に整合している必要があり、簡単に我が国だ

けが“活性本体部分を基準 1 とする表記法”を採用することは難しい。

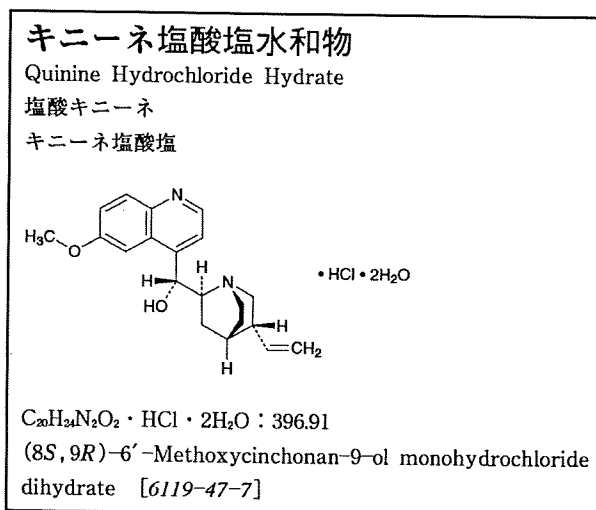


図 10 JP15 に記載された「キニーネ塩酸塩水和物」の記載

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

2009 年度は 2 回の PDG 及び ICHQ4B が開かれた。PDG では、1 項目の一般試験法が新規に国際調和に至った。改定項目数は、医薬品添加物が 4 であった。これらは、2012 年 9 月に日本薬局方 (JP) に収載予定であるが、エチルセルロースは日局に収載しない方針である。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 28 項目、医薬品添加物 62 項目中 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、毎月の電話会議で作業課題の進捗確認を行っているが、2009 年 7 月以降は WebEx を利用した Web 会議に切り替えて実施した。電話会議中に関連ファイルをモニター上で確認・操作できて有用である。また、PDG 関連情報を、共通の Web site に保管して利用することに合意し、Web site の開発を進めることとされた。

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、Q6A 関連 11 項目のうち、2009 年度において、溶出試験法の本体部分が step4、崩壊試験法が step4、無菌試験法が step4、粒度測定法:ふるい分け法が step2 としてそれぞれ合意に達した。なお、製剤均一性試

験法は一部、FDA の合意が得られず step4 以前で足踏み状態、注射剤の採取容量試験法が step4 に合意済みであるが USP で検討事項が残っている状態、微生物限度試験法も step4 に合意済みであるが菌名の変更があり検討中、注射剤の不溶性微粒子試験法も step4 に合意済みであるが JP の一部記載の改正待ち、Colour については、未だ PDG での調和に至っていない、残された Q4B 評価対象項目となっている。新たに取り上げられることとなった5項目のうち、錠剤の摩損度試験法が step4、キャピラリー電気泳動法が step2、SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動法が step4としてそれぞれ合意に達した。また、Q4B/PDG 間のプロセスを改善するための方策やさらなる Q4B 評価対象品目の拡大が提言されている。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溶出試験法及び製剤均一性試験法の2項目について提案されていたが、各局方からのコメントを吟味した結果、方向性が定まり CP も指名された。また、PDG に新規調和項目として Q4B から提案された一般試験法や Tri-PEC から提案された医薬品添加物への対応に関して PDG 内で検討された。一般試験法については、一部で優先順位が高いとされた Chromatography を調和項目とするか否かの検討を開始する前の feasibility study の段階である。添加物に関しては、将来の調和品目として保留し、現在は、当面の調和品目に集中すると結論された。

PDG ではさらに、薬局方の国際調和に関連して、以下の結果を得た。(1)合意した FAQ の Web site での記載及び(2)非調和箇所の表示に関する JP 独自の立場と取り扱いの容認、(3)local requirement の取り扱い方の合意とこれを盛り込んだ PDG Working Procedures の改正案の作成開始、(4)金属不純物の純度試験に対する PDG の限定的関与の確認、(5)Glycerin 及び Propylene Glycol の品目に対して、DEG(Diethylene Glycol)及び EG (Ethylene Glycol) 試験を設定する件に関して非調和項目とすることの合意、(6)オブザーバー追加(中国薬局方)提案への不合意、(7)容器の定義を含む貯法を非調和項目とすること。

JPは、以上の諸課題に関して、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、国際調和検討委員会

で議論し、JPとしての立場、考え方、方向性を定め、これを PDG 及び Q4B で積極的に表明した。

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

本研究で用いたアプローチでは、作用が強く含量規格の幅の狭い医薬品には、真度や精度の良い分析法を適用することが求められるが、緩和で含量規格の幅の広い医薬品(ビタミン剤や多くの生薬関連製剤など)の場合には、真度や精度が多少劣るような分析法の適用も可能とされることになる。

真度と精度に基づく統計的な分析法の評価において、真度が主な原因となって採用が適切でない判断された場合には、測定結果を真度で補正するように分析法を改善することにより、試験に用いることが可能となる。

分析法バリデーションで得られた推定値の妥当性をどうやって評価したらよいか分からないとの声が聞かれる“真度と精度”の評価方法に関して、鹿庭の提唱したアプローチを取り上げ、医薬品の試験データに実際に適用して、その有用性を検証した。

その結果、分析法バリデーションで得られた真度と精度値を基に、消費者危険と生産者危険の観点に立って、統計学の初歩的な手法を適用することにより、分析法の妥当性を明確な形で評価することが示された。消費者危険の観点に立って考えることは、企業の方にとっても行政の方にとっても重要なことと思われる。

分析法バリデーションをやることは定着しつつある今、もう一步話を進めて、このように得られた真度や精度から分析法の妥当性を評価するアプローチを積極的に採用することが望まれる。

なお、本稿で示した真度と精度の推定値に基づいて分析法の妥当性を評価するアプローチは、あくまで真度と精度の推定値の妥当性の評価方法の一例として示すものであり、他に適切な評価方法があれば、それを用いても何ら差し支えないことは言うまでもない。

D-3 : 生物医薬品の試験法及び各条の改正に関する研究

バイオ後続品の開発においては、有効成分であ

る目的物質の同一性評価が困難であり、ほとんどの製品で非臨床データおよび血中動態以外の臨床データが必要となる。したがって化学薬品の後発品と異なる視点がある評価には必要となる。また新薬と同様に、恒常性と頑健性のある製法を独自に確立するとともに、新薬と同等レベルの特性解析を行ったうえで、目的とする先行バイオ医薬品との品質特性の同等性・同質性を示す必要がある。その上で、これらのデータや既知の情報を考慮して、必要な非臨床試験、臨床試験をデザインし、得られたデータによって、有効性や安全性を含めた先行バイオ医薬品との同等性・同質性を示すことが求められる。

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

D-4-1: ショウキョウの成分含量測定法に関する検討

今回の測定の結果、市場品のショウキョウ 64 検体には、[6]-ギンゲロールが 0.20~0.93% の範囲で含有されており、その平均は 0.45% であり、標準偏差は 0.151% であることが明らかとなった。また、市場品のショウキョウ末 29 検体には、[6]-ギンゲロールが 0.09~0.59% の範囲で含有されており、その平均は 0.38% であり、標準偏差は 0.184% であることが明らかとなった。[6]-ギンゲロール含量に関して、ショウキョウ末の方が有意に低い結果 ($p < 0.05$) であったが、この原因として、粉碎加工時の影響や粉末加工後の経時的な減少が考えられた。

粉末加工後の経時的な減少については、製造または入手年月の分かっている 22 検体を年度別に分けて検討すると、2008 年以後の 10 検体の平均値が 0.45 %、(ショウキョウでは 35 検体平均 0.54%)、2007 年以前の 12 検体の平均値が 0.26 % (ショウキョウでは 29 検体平均 0.43%) と粉末として保管することで、経時的に含量が減少しやすくなっていることが類推できるが、粉碎加工時の減少も含め、今後の検討が必要と思われる。一方、6 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、何れも良好な理論段数、シンメトリー係数及び相対標準偏差を示された。従って本試験法はショウキョウの成分含量測定法と

して設定可能であると考えられた。今後はさらに検体数を増やし検討する予定である。

D-4-2: カンキョウの成分含量測定法に関する検討

今回の測定の結果、市場品のショウキョウ 45 検体には、[6]-ショーガオールが 0.20~0.93% の範囲で含有されており、その平均は 0.20% であり、標準偏差は 0.087% であることが明らかとなった。また、7 社 4 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、何れも良好な理論段数、シンメトリー係数及び相対標準偏差を示された。従って本試験法はショウキョウの成分含量測定法として設定可能であると考えられた。カンキョウはショウキョウを湯通し又は蒸して調製されるため、これらの加工処理の方法や程度が含量のばらつきにどの程度影響を与えているかも今後の検討が必要と思われる

D-4-3: ヤクモソウの加工調製法に関する検討

メハジキの TLC 上で葉の成分において、10% 硫酸加熱で濃く呈色するスポットは、UV 吸収が確認されず呈色の色調から本植物種から多く報告のある Labdane 系 diterpenoid と推定される。HPLC では PDA において一部差違が認められたが、Labdane 系 diterpenoid を分析するためにはさらに ESLD を用いた分析が必要と考えられる。その後当該成分の精製を行ったが、化合物の単離には至っていない。これは精製中に著しい損失があるものと推定され、再度抽出後との TLC 比較をしたところ、ほとんどが消失していることが明らかとなった。これらのことから当該化合物は長期間放置すると揮発すると考えられ、GCMS 分析を行ったが、分子量 332 付近の化合物と考えられた。現在本化合物の構造を解析中である。

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

ICHQ8 ガイドラインなどの医薬品製造に関する新しいガイドラインを受け、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になってきている。添加剤に関して薬局方に収載すべき情報は従来の

化合物としての確認、純度、定量だけでは不十分であり、添加剤の FRC に関する記載が JP においても必要であると思われる。また、一般試験法の国際調和が進んでいるが、FRC 関連の一般試験法において、三局で方法が異なるものもあり、そのような試験法の調和を進めることも必要であると考えられる。

D-6： 理化学試験法の改正に関する研究

本研究では、ラットに金チオリンゴ酸ナトリウムを投与し、投与した Au の体毛蓄積度に関して実験を行った。

実際に投与する前に、まず薬学部動物舎の飼料及び水の分析を行った。その結果、Au は飼料及び水中に全く含まれておらず、薬学動物舎でラットを飼育するに当たり、ラットに飼育期間中、水及び飼料を自由に摂取させても本研究に及ぼす影響は全くないと考えられたので、飼料及び水を自由摂取させることとした。

はじめに、ラットに金チオリンゴ酸ナトリウムを腹腔内投与し、どの程度の期間で投与した Au が体毛へ蓄積するかを調べた。金チオリンゴ酸ナトリウムを投与してから 5 週間後の体毛中の Au の濃度が最も高いという結果が得られたが、投与する前にブランク体毛試料として全体毛を刈り取ってしまったこと及び体毛が生え変わるには 5 週間程度の期間を要することから 5 週間毎の採毛になってしまい、この実験だけでは「どの程度の期間で投与した Au が体毛へ蓄積するか」という疑問には正確に答えることができなかった。そこで、金チオリンゴ酸ナトリウムを投与していないラット体毛には Au は全く含まれていないことから、ブランク体毛試料を採取するのを止め、採毛間隔の短縮を図り、「どの程度の期間で投与した Au が体毛へ蓄積するか」という疑問への正確な答えを引き出すべく、金チオリンゴ酸ナトリウムを投与してから 1, 3, 5 週間後の体毛の分析を行った。その結果、金チオリンゴ酸ナトリウムを投与してから 3~5 週間の間に投与した Au が最も体毛中に移行するという結論に達した。投与してからすぐではなく 3~5 週間という比較的長い時間を経て最も体毛中に移行するという事は、人間の場合、金チオリンゴ酸ナトリウムの投与期

間が比較的長いという事実とも一致する。

また、体毛の蓄積部位に関する実験の結果、投与部位に関係なく投与した金チオリンゴ酸ナトリウムが腹部の体毛に蓄積するということがわかった。体毛の採取量が腹部の方が背部よりも少ないので相対的に体毛中の Au の濃度が高くなったとも考えられるが、腹部の体毛の採取量が背部と比較して少ないとは言ってもおよそ 1/2 程度はあるので、体毛採取量だけでは体毛中の Au の濃度に大きく差がでないはずである。よって、「投与部位とは関係なく腹部の体毛に蓄積する」ことが明らかである。この理由に関しては以下のような可能性が考えられる。即ち、薬物の体毛への移行メカニズムは血液経由であり、したがって、ラットの腹部には背部よりも大きな血管が多く存在しているため、腹部に選択的に蓄積した可能性が考えられる。

また、投与量と体毛蓄積度の関係について調べた。「体毛分析により、医薬品の摂取状況の判別を可能にする」ということが本研究における最大の目的であったが、そのためには投与量と体毛蓄積度との間に相関関係が成り立つことが必要不可欠である。実験の結果、投与量と体毛蓄積度との間に高い相関関係が成り立つことが分かり、体毛中の Au の濃度と投与量をグラフにプロットして作成した近似曲線が描けた。よって、投与量が未知のラットでも体毛中の Au の濃度を測定すれば、近似曲線より投与量がわかるということになる。このことを人間に応用した場合、毛髪を採取して分析することにより、医薬品の摂取状況が把握できる可能性を秘めている。

さらに、連続投与についての検討を行った。その結果、連続投与により体毛中への Au の蓄積が見られた。連続投与が終わって 1 週間後のラットは投与前よりもかなり弱っているのが見た目にも明らかで連続投与により体内へ蓄積して結果、副作用が発現したものと思われる。医薬品が本来の薬効を発現するためには連続投与により投与量を有効量と中毒量の間にする必要があるが、連続投与により中毒量を超えたため、ラットが弱っていったと考えられる。

なお、人間の場合、臨床上の投与量は 10~100 mg であり、人間とラットの体重差を考慮す

ると本研究における投与量は数十倍多い。したがって、投与量を臨床適用レベルにした場合、検出できなくなる可能性もあり、実際の人間の毛髪分析に応用する場合には検出感度をさらに向上させる必要があると思われる。

D-7： 製剤総則ならびに製剤試験法の改正に関する研究

ツロブテロール貼付剤は、テープ状の製剤で、試験液による形状の変化も小さいため、パッチ製剤よりも放出試験は容易であった。試験に使用するパーツの影響はほとんど受けないこと、膜を使用する場合には、疎水性膜の使用には膜透過が大きな要因とならないか注意する必要があると思われる。

今後 JP への取り込みに際しては、USP や EP が採用している、パドルオーバーディスク法に加え、皮膚適用製剤の大きなサイズのものをそのまま貼り付けることができるシリンダー法の採用で充分であると思われる。さらに、現在は USP にも EP にも採用されていないが、USP Forum では、昨年、パッチ製剤以外の軟膏剤等への適用のために、拡散セル法が加えられた <724>Topical and Transdermal Drug Products が新たに提案されている。JP への皮膚適用製剤の放出試験法としては、拡散セル法を取り込んだ形で、三種類の方法を収載するのが適切であると考えられる。

D-8： 医薬品の名称、化学名及び構造式の改正に関する研究

今回は、JP15 に記載されている化学薬品のうち多価酸あるいは多価塩基との塩が医薬品として記載されている各条品目について、構造式、分子式、分子量、化学名などの記載を調査し、USP や EP の記載方法と比較検討した。その結果、これらの医薬品では、国際的に活性本体部分を倍体表記する方法が採用されているが、化学名の記載が JP のみ活性本体部分を基準とする 1 倍体表記を採用していることが明らかになった。すなわち、JP では、構造式、分子式、分子量と化学名が整合していない。局方が、医薬品の規格書であることを考えると、活性本体部分を基準とする 1 倍体

方式を採用して、構造式から化学名まですべての項目を整合させるのが望ましいように思われる。しかし、分子量の変更は、定量規格値の変更を伴うこと、JP のみの変更では、国際的な整合性から逸脱することなどを考えると、変更には慎重な対応が必要である。

E. まとめ

1. 局方国際調和の促進に関する研究

局方国際調和の進捗状況と課題をまとめた。2009年度は2回のPDG及びICHQ4Bが開かれた。

PDG では、1項目（固体—水間の相互作用）の一般試験法が新規に国際調和に至り、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 28 項目、医薬品添加物 62 項目中 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、毎月の電話会議で作業課題の進捗確認を行っているが、2009年7月以降はWebExを利用したWeb会議に切り替えて実施した。またPDG関連情報を、共通のWebサイトに保管して利用することに合意し、Webサイトの開発を進めることとされた。また局方の国際調和に関連して以下の調整を行った：(1) 非調和箇所の表示に関するJP独自の立場と取り扱いの容認；(2) local requirement の取り扱い方の合意とこれを盛り込んだPDG作業手順書の改正案の作成開始、(3) 金属不純物の純度試験に対するPDGの対応の確認；(4) 添加剤 Glycerin 及び Propylene Glycol について、意図的不純物 Diethylene Glycol 及び Ethylene Glycol 試験の設定に関して非調和とすることの合意；(5) オブザーバー追加（中国薬局方）提案への不合意；(6) 容器の定義を含む貯法を非調和とすること。

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）では、Q6A 関連 11 項目のうち、2009 年度において、溶出試験法の本体部分が step4、崩壊試験法が step4、無菌試験法が step4、粒度測定法：ふるい分け法が step2 としてそれぞれ合意に達した。製剤均一性試験法、注射剤の採取容量試験法、微生物限度試験法、注射剤の不溶性微粒子試験法は最終合意に

向けて最終調整中である。色調試験はPDGで調和に至っておらず、残されたQ4B評価対象項目である。新たに錠剤の摩損度試験法、キャピラリー電気泳動法、SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動法が検討項目に加えられた。

2. 化学合成医薬品の試験法及び各条規格の改正に関する研究

昨年度は試験データの信頼性確保について検討を行い、分析結果の信頼性を確保する上で必要な考え方をまとめ、日局15第2追補に新たに収載された参考情報「システム適合性」に反映させた。今年度はさらに分析法バリデーションで得られた“真度と精度”の推定値に関して、鹿庭の提唱した評価のアプローチを取り上げ、その有用性を検証した。その結果、分析法バリデーションで得られた真度と精度の推定値を基に、消費者危険と生産者危険の観点に立って統計学の初歩的な手法を適用することにより、分析法の妥当性を明確な形で評価できることが示された。消費者危険の観点に立って考えることは、企業にとっても行政にとっても重要なことと考えられる。

3. 生物医薬品の試験法及び各条規格の改正に関する研究

過去2年間の研究をもとにバイオ後続品の指針が平成21年3月4日に発出され、バイオ後続品の本格的な開発が我が国でも行われようとしているが、このバイオ後続品評価の観点、およびこれら後続品を局方収載するに当たっての留意点について検討した。その結果、バイオ後続品の開発においては、恒常性と頑健性のある製法を独自に確立するとともに、新薬と同様のレベルで品質特性の解析を行ったうえで、同等とする先行バイオ医薬品との品質特性の同等性・同質性を示す必要がある。その上で、品質データや既知の情報を考慮して、必要な非臨床試験、臨床試験をデザインし、得られたデータによって、先行バイオ医薬品との同等性・同質性を示すことが求められることを明らかにした。バイオ後続品を局方に収載する際にも、このような評価を考慮した上で、適切な規格試験法等の設定が求められる。

4. 生薬の試験法及び各条規格の改正に関する研究

生薬成分の局方試験法を設定するための研究を継続した。まず、ショウキョウ及びカンキョウの成分含量測定法として現在検討中の試験法を用いて、ショウキョウ各種市場品64検体、ショウキョウ末各種市場品29検体及びカンキョウ各種市場品45検体を収集し、指標成分である[6]-ギンゲロール(ショウキョウ及びショウキョウ末) [6]-シヨウガオール(カンキョウ)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。理論段数、シンメトリー係数及び相対標準偏差とも良好なデータが得られ、検討中の試験法はショウキョウ、ショウキョウ末及びカンキョウの成分含量測定法として妥当と考えられた。また、ヤクモソウ収穫後の乾燥温度条件における成分の変化の検討を行った。メハジキの地上部を5段階の温度にて乾燥させた後、花、葉、茎に分けて成分の違いを検討したところ、高温で消失する葉の成分を見いだした。それらの成分の分離は困難であったが、抽出液を放置すると当該成分に明確な減少がみられ、そのため当該成分は精油成分であると推定された。さらに筑波研究部の圃場にて栽培されたメハジキ収穫物について日本薬局方の確認試験法を適用した結果、指標成分であるスタキドリンが確認され、局方規格に適合することが明らかとなった。

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

初年度、次年度は主としてEPのFRCへの対応に関連して検討を行ったが、本年はUSPの *Pharmacopeial Forum* Vol. 35 (5) (2009)に、GENERAL CHAPTERSのGeneral Information <1059> EXCIPENT PERFORMANCEが提案されたことを受け、EPのFRCに対する対応と比較した。添加剤の機能に関連した試験としてリストされたFRC関連の試験法について、JPやEPでの一般試験法への収載状況を調査したところ、大部分の試験項目は三局に既に収載されていることがわかった。しかし、粉体特性の試験法など国際調和した試験法もあるが、同じ試験項目であっても試験方法が異なるものもあった。したがって、FRCの試験項目だけでなく、FRC関連の一般試験法の調

和を進めることの必要性が浮かび上がった。

6. 理化学試験法の改正に関する研究

約80種類の元素の同時定量が可能である高周波誘導結合プラズマ発光分光法 (ICP-AES) について、局方一般試験を含めた薬学分野への応用を検討した。ICP-AESが生体金属の一斉分析に有用であることを示し、さらに体毛などの生体試料中に含有される微量金属の定量的な前処理・回収法を確立した過去2年間の研究をもとに、リウマチ治療薬の金チオオリゴ酸ナトリウムをラットに投与し、Au (III) の生体内動態について検討した。その結果、Au (III) の体毛への移行は投与部位によらずラットの腹部に選択的であることなどが判明し、ICP-AESが医薬品の体内動態解析等、薬学分野で有効利用できることを立証した。

7. 製剤総則ならびに製剤試験法の改正に関する研究

医薬品の放出特性は品質管理上きわめて重要であるが、JP は経口固形製剤の溶出試験のみを製剤試験として収載している。一方 USP や EP では、パッチ製剤や座薬のための放出試験法が収載されている。そこで JP において経皮吸収製剤の放出試験を収載するための検討を行った。モデル製剤としてツロブテロール貼付剤を用い、USP や EP が採用しているパドルオーバーデスク法とシリンダー法による比較を行い、使用する膜特性の違いによる影響等を検討した。その結果、JP ではパドルオーバーデスク法に加え、大きなサイズの皮膚適用製剤をそのまま貼り付けることができるシリンダー法の採用で充分であると思われる、さらにパッチ製剤以外の軟膏剤等への適用のために拡散セル法を取り込むことが妥当と考えられた。

8. 医薬品の名称、化学名及び構造式の改正に関する研究

JP15に収載されている化学薬品のうち多価酸あるいは多価塩基との塩が医薬品として収載されている各条目品について、構造式、分子式、分子量、化学名などの記載を調査し、USP や EP の記載方法と比較検討した。その結果、これらの医

薬品では、国際的に活性本体部分を倍体表記する方法が採用されているが、化学名の記載が JP のみ活性本体部分を基準とする1倍体表記を採用していることが明らかになった。すなわち、JP では、構造式、分子式、分子量と化学名が整合していない。局方が、医薬品の規格書であることを考えると、活性本体部分を基準とする1倍体方式を採用して、構造式から化学名まですべての項目を整合させることが望ましいように思われる。しかし、分子量の変更は、定量規格値の変更を伴うこと、JP のみの変更では、国際的な整合性から逸脱することなどを考えると、変更には慎重な対応が必要である

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文および総説

- 1) Izutsu, K., Kadoya, S., Yomota, C., Kawanishi, T., Yonemochi, E., Terada, K.: Freeze-drying of proteins in glass solids formed by basic amino acids and dicarboxylic acids, *Chem Pharm Bull*, 57, 43-48 (2009)
- 2) Aso, Y., Yoshioka, S., Miyazaki, T., Kawanishi, T.: Feasibility of ^{19}F -NMR for Assessing the Molecular Mobility of Flufenamic Acid in Solid Dispersions, *Chem Pharm Bull*, 57, 61-64 (2009)
- 3) Hikaru Tanaka, Iyuki Namekata, Hideaki Nouchi, Koki Shigenobu, Toru Kawanishi, and Akira Takahara, New Aspects for the Treatment of Cardiac Diseases Based on the Diversity of Functional Controls on Cardiac Muscles: Diversity in the Excitation-Contraction Mechanisms of the Heart, *J. Pharmacol.Sci.*, 109, 327-333 (2009)
- 4) Iyuki Namekata, Yayoi Tsuneoka, Akira Takahara, Hideaki Shimada, Takahiko Sugimoto, Kiyoshi Takeda, Midori