

3. 特異性及び検出感度の評価

ヘパリンカルシウムを TSP 重水溶液に溶解してヘパリンカルシウム TSP 重水溶液とした (20 mg/0.6 mL)。この液に、最終濃度 0.5, 1.0, 2.0 及び 10.0% (w/w) OSCS を添加した後、JEOL JNM-ECA 500 (500 MHz) を用いて ¹H-NMR を測定した。TSP のシグナル面積強度に対する OSCS の *N*-アセチル基に由来するシグナルの相対面積強度を求めた。

4. 共同検定

国立医薬品食品衛生研究所生物薬品部、同有機化学部、味の素(株)、沢井製薬(株)が参加した。ここでは試験室を便宜上 A~D と記す (順不同)。試験室 A は Varian MERCURY VX 400 (400 MHz)、試験室 B は JEOL JNM-ECA 500 (500 MHz)、試験室 C は Bruker AVANCE 500 (500 MHz)、試験室 D は Bruker AVANCE 600 (600 MHz) を使用した。

ヘパリンカルシウム TSP 重水溶液に、最終濃度 0.5 及び 10% (w/w) となるように OSCS を添加して試料溶液 (20 mg/0.6 mL) とした。この液につき ¹H-NMR を測定し、OSCS 及びヘパリンカルシウムの *N*-アセチル基のプロトンに由来するシグナルの化学シフト及び S/N 比、並びにヘパリンカルシウムの *N*-アセチル基の ¹³C サテライトピークの化学シフトを求めた。

結 果

1. 特異性

プロトン共鳴周波数 500 MHz の装置を用いてヘパリンカルシウムの ¹H-NMR を測定したとき、ヘパリンカルシウムの *N*-アセチル基に由来するシグナルは、2.05 ppm 付近に観測された (Fig. 2A)。次に、ヘパリンカルシウムに 1% の OSCS を添加して ¹H-NMR を測定したところ、OSCS の *N*-アセチル基に由来するシグナルは 2.18~2.19 ppm に観測された (Fig. 2B)。この結果を 1% OSCS 添加ヘパリンナトリウムのスペクトルと比較したところ、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、ピーク形状がブロードで、化学シフトは低磁場側にシフトしていることが確認された (Fig. 2B 及び 2C)。

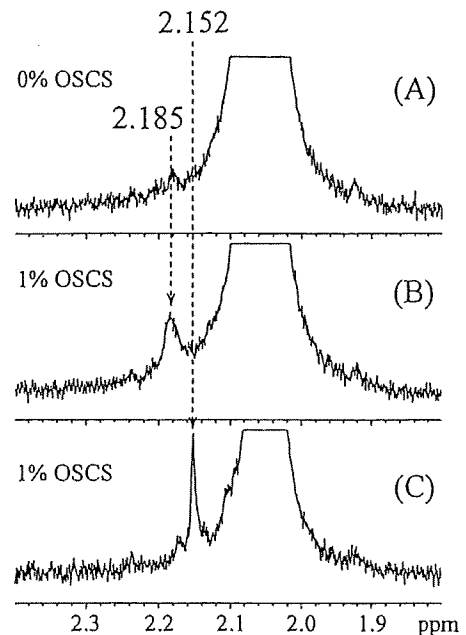


Fig. 2 (A) ヘパリンカルシウム、(B) 1% OSCS 添加ヘパリンカルシウム、及び (C) 1% OSCS 添加ヘパリンナトリウムの ¹H-NMR スペクトル (1.8~2.4 ppm)

2. 検出限界

ヘパリンカルシウムに、ヘパリンナトリウム中の OSCS の検出限界に相当する 0.5% の OSCS を添加し、プロトン共鳴周波数 500 MHz の装置を用いて ¹H-NMR を測定したとき、OSCS の *N*-アセチル基に由来するシグナルは、ヘパリンカルシウムの *N*-アセチル基の ¹³C サテライトピークと重なることが分かった。しかし、0.5% OSCS のシグナル面積強度は、高磁場側に観測される ¹³C サテライトピークのシグナル面積強度に比べて有意に大きいこと、更にデカップリング法により ¹³C サテライトピークを消去して ¹H-NMR を測定した場合でも 0.5% の OSCS の *N*-アセチル基に由来するシグナル (2.185 ppm) を確認できたことから、0.5% の OSCS は検出可能と判断された (Fig. 3)。

3. 共同検定

プロトン共鳴周波数 400 MHz 以上の装置を用いて、3 機関 4 試験室において、0.5 及び 10.0% OSCS を含むヘパリンカルシウムの ¹H-NMR を測定したところ、ヘパリンカルシウムと OSCS の *N*-アセチル基に由来するシグナルは、それぞれ 2.05 ppm

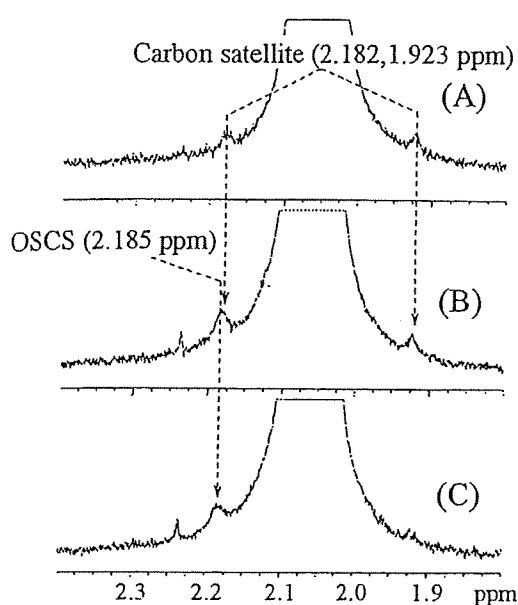


Fig. 3 0.5% OSCS をヘパリンカルシウムに添加したときの OSCS の *N*-アセチル基のシグナル及び ¹³C-サテライトピーク

(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, ヘパリン

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 ^a	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 ^a	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

^a ¹³C サテライトピークを含む

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鴛田淳専門官、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).

ハトムギの「日本薬局方」収載のための基原と生薬の性状の規格

寺林 進¹, 酒井英二², 山路弘樹³, 近藤健児⁴, 川原信夫⁵, 合田幸広⁶

¹横浜薬科大学漢方薬学科 245-0066 神奈川県横浜市戸塚区俣野町601

²岐阜薬科大学薬草園研究室 502-8585 岐阜市三田洞東5-6-1

³(株)ツムラ生薬研究部 300-1192 茨城県稲敷郡阿見町吉原3586

⁴国立医薬品食品衛生研究所生薬部 158-8501 東京都世田谷区上用賀1-18-1

Authentication and Standardization of Botanical Origin and Morphology of Coix Fruit in the Japanese Pharmacopoeia

Susumu TERABAYASHI^a, Eiji SAKAI^b, Hiroki YAMAJI^c, Kenji KONDO^c,
Nobuo KAWAHARA^d and Yukihiko GODA^d

^aLaboratory of Medicinal Resources, Department of Kampo Pharmacy, Yokohama College of Pharmacy,
601 Matano-cho, Totsuka, Yokohama, Kanagawa, 245-0066 JAPAN;

E-mail: s.terabayashi@hamayaku.ac.jp

^bLaboratory of Herbal Garden, Gifu Pharmaceutical University,
5-6-1, Mitahora-higashi, Gifu, 502-8585 JAPAN;

^cBotanical Raw Materials Research Department, Tsumura & Co.,
3586, Yoshiwara, Ami-machi, Inashiki-gun, Ibaraki, 300-1192 JAPAN;

^dDivision of Pharmacognosy and Phytochemistry, National Institute of Health Sciences
1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo, 158-8501 JAPAN

(Received on September 1, 2008)

Definition (botanical origin) and description (morphology, etc.) of Coix fruit in the Japanese Pharmacopoeia were presented for authentication and standardization of crude drug. The crude drug, Coix fruit is defined as a fruit enveloped with an involucre of *Coix lacryma-jobi* Linné var. *mayuen* Stapf. The smell, taste, and external morphological and anatomical features of Coix fruit were described based mainly on market samples. The term of organ enveloping fruit is also discussed.

Key words: Coix fruit, *Coix lacryma-jobi* Linné var. *mayuen* Stapf, fruit, involucre, morphology.

ハトムギの苞鞘に包まれた果実は、消炎、排膿、利尿などの作用があり民間薬として疣取りなどに用いられてきた。またハトムギ茶など健康食品としての利用も多い。ハトムギの種子は薏苡仁（よくいにん）と呼ばれ漢方では利尿、去風湿、清熱作用を目的に麻杏薏甘湯、薏苡仁湯などに配合される。

薏苡仁のほうは『日本薬局方』に収載されているが、ハトムギの苞鞘に包まれた果実は、

『日本薬局方』の下位に位置づけられる公定書規格である『日本薬局方外生薬規格1989』に“ハトムギ”の名で収載されている（日本薬局方解説書編集委員会 2006, 厚生省薬務局審査第二課監修 1989）。

“ハトムギ”も医薬品として重要とされる生薬の一つとして『日本薬局方』収載の候補となり、厚生労働省局方部会の下位に位置する局方原案審議委員会の一つである生薬等委

員会で規格案(基原, 生薬の性状, 確認試験, 理化学試験など)が検討されてきた。ここでは, 規格のうち基原(原植物と薬用部位)および生薬の性状(外観, 内部形態, におい, 味)について生薬等委員会として検討した結果を報告する。生薬の性状については市場流通品や薬草園栽培品ハトムギの観察結果を基に規格案を作成した。

材料と方法

本研究に用いたハトムギの国内市場流通品は表1に示すとおりである。それらについて外部形態, におい, 味, 内部形態を調べた。外部形態は肉眼で, 内部形態は, 凍結ミクロトームで横切片, 縦切片を作成し, 光学顕微鏡で観察した。

結果と考察

1. 基原

生薬の基原は, 原植物と薬用部位で定義される。生薬ハトムギの場合, 原植物はハトムギで, 薬用部位は通常「苞鞘」と呼ばれる苞が変形特殊化した薬的器官およびそれに包まれる穎果(イネ科の果実は数枚の穎に包まれ, 穎果と呼ばれる)及びその他の器官である。

原植物のハトムギは, Romanet が1881年に *Coix Ma-Yuen* Romanet と命名し記載したが (Bull. Soc. Acclimat., Ser. II, 8: 442, 1881), その後 Stapf が1896年にジュズダマ *Coix lacryma-jobi* Linné の変種として組み替え, *Coix lacryma-jobi* Linné var. *mayuen* (Romanet) Stapf としたものである (Hook. f., Fl. Brit. Ind. 7: 100, 1896)。ジュズダマとは花序が垂れる, 苞鞘がぐだけやすいなどの点で区別される。ハトムギの学名は *Coix lacryma-jobi* Linné var. *mayuen* (Romanet) Stapf となるが, 『日本薬局方』では慣習上 () でくくられた命名者は表記しないので『日本薬局方』には *Coix lacryma-jobi* Linné var. *mayuen* Stapf として記載する。また命名者は慣習上簡略化しないので L. ではなく Linné とする。

「苞鞘」と呼ばれる部分の用語については文献によって表記が異なる。『日本薬局方』では何を使用するのが適切か考察した。表2に示すとおり, 日本の主要な植物分類学の図鑑では一般に「苞鞘」が用いられている。公

的な文書についてみると, 文部科学省の『学術用語集』の中にはこの用語はないが, 『日本薬局方外生薬規格1989』では「包しょう」, 『農林水産省, 種苗登録特性調査表』の中では「鞘状苞」, 厚生省薬務局監修の『薬用植物, 栽培と品質評価2』では「苞鞘」と「苞穎果」が用いられている。

文部科学省の『学術用語集』になく, 植物形態学会や植物分類学会での用語の統一がない状況では植物形態学, 植物分類学の分野で慣用的に用いられているものを採用するのが良いと考える。この観点からは「苞鞘」とするのが適切で, 本用語は藤田や佐竹らのハトムギに関する論文でも使われ, また公的出版物である『薬用植物, 栽培と品質評価2』でも用いられており『日本薬局方』に使用する用語として問題はないと考える。

苞鞘の英文表記については国内外の文献において, spathe, involucre, involucre bract, sheathing bract, bract sheath などがあり統一されていない(表2)。これらの表記はいずれも間違いとは言えない。日本の主要な文献で用いられている英文表記即ち, 『日本薬局方外生薬規格1989』の英語版である『The Japanese Standards of Crude Drugs (Herbal Medicines) 1989』の bract sheath, 『農林水産省, 種苗登録特性調査表』の sheathing bract, 大井の『日本植物誌』英文版の『Flora of Japan』にある involucre bract, 佐竹らの『ジュズダマ属生薬の研究, 第1報 輸入「ハトムギ」の栽培特性について』の中で用いられた involucre のいずれかを採用するのが良いと考える(表2)。ここでは involucre を採用する。

2. 生薬の性状

生薬の性状とは, 外観, 内部形態, におい, 味をさす。国内市場流通品のハトムギを入手しそれらの性状を調査した。

ハトムギ国内市場流通品の性状を調査した結果は以下に記すとおりである。ハトムギの苞鞘及び果実の外観, 内部形態については既に藤田の詳細な報告があり(藤田 1937a, 1937b), 今回の市場品の調査では形態学的に新たな知見といえるものは得られなかった。

表1. ハトムギ調査標本リストおよびその外観

標本番号*	産地、又は市場	入手ルート	入手年月日	外形	長さ (mm)**	幅 (mm)**	厚さ (mm)**	色
HA 050801	中国、遼寧	日本生薬連合会	2005	(狭)卵球形	9-12 (9.9)	5-7 (6.0)	4-6 (5.0)	(黑褐色~) 褐色~灰褐色
HA 050802	中国、貴州	日本生薬連合会	2005	卵球形	7-10.5 (9.2)	5-7 (6.1)	4.5-6 (5.0)	黑褐色、褐色 (~ 灰褐色)
HA 050803	中国、貴州	日本生薬連合会	2005	卵球形	8-10 (9.5)	5.2-7.5 (6.4)	4.5-7 (5.5)	黑褐色~褐色 (~ 灰褐色)
HA 050804	中国、遼寧	日本生薬連合会	2005	卵球形	8-12 (9.9)	5-7 (5.9)	4-6 (5.1)	黑褐色~褐色 (~ 灰褐色)
HA 050805	中国、広西	日本生薬連合会	2004	卵球形	8-12 (9.5)	5.2-7.5 (6.2)	4.5-6.5 (5.2)	黑褐色~褐色 (~ 灰褐色)
HA 050806	中国、広西	日本生薬連合会	2005	卵球形	7-11.5 (9.3)	5.8-7.5 (6.3)	4.5-6 (5.2)	黑褐色~褐色 (~ 灰褐色)
HA 050807	中国、遼寧	日本生薬連合会	2005	(狭)卵球形	8-12 (9.7)	5-7 (6.1)	4.5-6 (5.2)	黑褐色~褐色、灰褐色
HA 050808	中国、湖南	日本生薬連合会	2001	卵球形	8-11 (9.4)	5-8.5 (6.5)	4-7 (5.4)	黑褐色~褐色 (~ 灰褐色)
HA 050809	中国、湖南	日本生薬連合会	2002	卵球形	8-11 (9.1)	5.5-7.5 (6.3)	4.5-6.5 (5.3)	黑褐色、褐色 (~ 灰褐色)
HA 050810	中国、湖南	日本生薬連合会	2003	卵球形	8-11 (9.6)	5-7 (6.2)	4.5-6 (5.3)	黑褐色~褐色 (~ 灰褐色)
HA 050811	ベトナム	日本生薬連合会	2004	卵球形	9-13 (10.9)	6-7.5 (6.6)	5-6.5 (5.6)	黑褐色~褐色 (~ 灰褐色)
HA 050812	中国、湖南	日本生薬連合会	2004	卵球形	8-11.5 (9.9)	6-8.5 (7.4)	5-7 (6.0)	黑褐色、褐色 (~ 灰褐色)
HA 050813	中国、湖南	日本生薬連合会	2005	卵球形	7-11 (9.3)	5-8 (6.2)	4-6 (5.0)	黑褐色~褐色 (~ 灰褐色)
HA 050814	タイ	日本生薬連合会	2002	卵球形	10-14 (11.7)	6-8.5 (7.6)	5.5-7.5 (6.3)	黑褐色~褐色 (~ 灰褐色)
THS 55549	ソムラ葉草園	ソムラ	不明	卵球形	8.5-10.5 (9.3)	5-6 (5.4)	4.5-5 (4.8)	褐色
THS 59960	中国	北京中薬研究所	1984. 4.13	卵球形	7-10 (8.8)	4.5-6.5 (5.7)	4-5 (4.9)	黑褐色~褐色~灰褐色
THS 58500	ブラジル	藤山本薬品工業	1983. 2.21	卵球形	9-12 (10.4)	5-6 (5.6)	4.5-5.5 (4.8)	褐色~灰褐色
THS 58710	中国、湖北	藤山本薬品工業	1983. 6.11	卵球形	8-10 (8.7)	5-6 (5.3)	4-5 (4.6)	褐色~灰褐色
THS 59093	北朝鮮	御医薬基盤研究所	1983.11.19	卵球形	7-13 (10.0)	4.5-6 (5.6)	4-5 (4.9)	褐色~灰褐色
THS 59097	鳥取県	御医薬基盤研究所	1983.11.19	卵球形	9-11 (9.7)	5-6 (5.4)	4-5 (4.6)	褐色、灰褐色
HYCP 360	中国、遼寧	韓栄田	2006.11.10	卵球形	9-12 (10.1)	5-6.5 (5.8)	5-5.5 (5.1)	褐色~灰褐色

*証標本 HA: 国立医薬品食品衛生研究所生薬部, THS: 藤山本薬品工業, HYCP: 韓派薬科大学漢方薬学薬用資源学研究室.
 **長さ, 幅, 厚さの () 内は平均値.

表2. ハトムギの果実を包む器官についての表記

文献	著者	出版	発行年	用語和文表記	用語英文表記
原色日本植物図鑑 草本編下	小山鐵夫	保育社	1973	苞鞘	
日本の野生植物 草本1 单子葉類	大井次三郎	平凡社	1982	苞鞘	
日本植物誌	大井次三郎	至文堂	1953	苞鞘 (ジュズダマ属の記載) 苞鞘 (ハトムギの記載)	
Flora of Japan (大井の日本植物誌の英語版)	J. Ohwi	Smithsonian Inst.	1965		involucral bract
新日本植物誌	大井次三郎	至文堂	1983	苞鞘 (ジュズダマ属の記載) 苞鞘 (ハトムギの記載)	
豊林水産省 種苗登録特性調査表	北川政夫		1996	鞘状苞	sheathing bract
日本薬局外生薬規格1989	豊林水産省 厚生省薬務局監修		1989	包しよう	bract sheath
The Japanese Standards of Crude Drugs (Herbal Medicines) 1989	厚生省薬務局監修	薬事日報社 国際厚生事業団	1989		
(日本薬局外生薬規格1989の英語版)					
薬用植物, 栽培と品質評価 2	厚生省薬務局監修	薬事日報社	1993	苞鞘, 苞鞘果	
漢薬慈恵仁の生薬学的知見 (其の一) (其二)	藤田路一	植物研究雑誌 vol.13, 683, vol.13, 758	1937	苞鞘	
ジュズダマ属生薬の研究, 第1報 輸入「ハトムギ」の栽培特性について	佐竹元吉 他	衛生試験所報告100号, 212	1982	苞鞘, 総苞	involucre
Flora of Okinawa and the southern Ryukyu Islands	E. H. Walker	Smithsonian Inst.	1976		spathe
Flora of Java	M. Froideville	N. V. Noordhoff	1968		spathe
Flora of Taiwan	Lin W.-C.	現代関係出版社	1978		involucre
Flora Europaea	T. G. Tutin	Cambridge Univ. Press	1980		involucre

1) 外観 (表1, 図1, 2)

外形：苞鞘の外形は、丸みの程度、先の尖り具合などロット内及びロット間で多少変異は認められたが、(狭卵球形~)卵球形であった。

大きさ：調査したロットのうちタイ産は他のロットに比し大きかった。全サンプルは、

長さ7~14 mm, 幅5~9 mm, 厚さ4~8 mmの範囲におさまっていた。

色：外面は、暗いものから明るいのまでロット内及びロット間で変異が認められたが、全体的に見ると黒褐色~褐色~灰褐色を呈していた。

形状：外面にはつやがあり、細かい縦じま

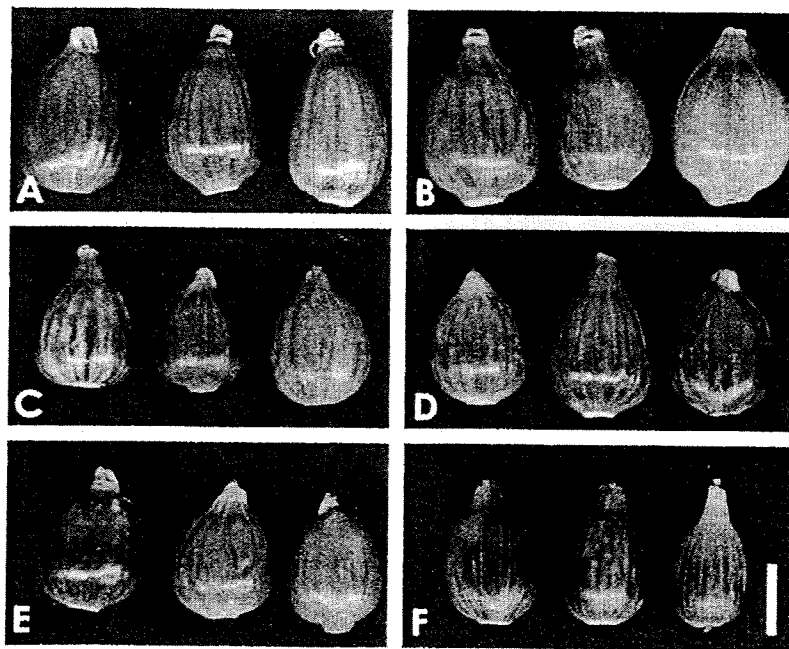


図1. ハトムギ, 国内流通品. A. ベトナム産 (HA 050811), B. タイ産 (HA 050814), C. 貴州産 (HA 050803), D. 湖南産 (HA 050812), E. 広西産 (HA 050806), F. 遼寧産 (HA 050804), スケールバー: 5 mm.

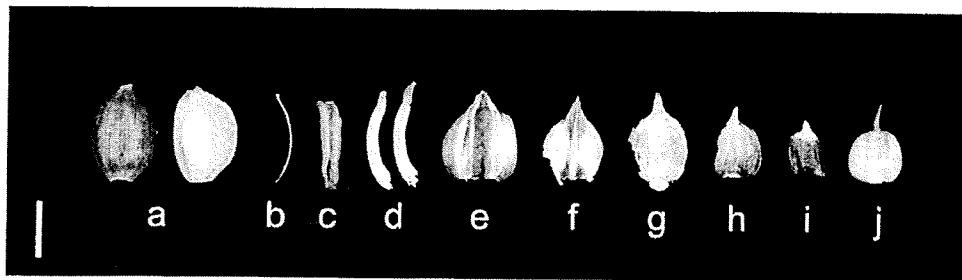


図2. ハトムギの苞鞘内部. a. 苞鞘, b. 雄性小穂をつける花柄, c. りん片 (苞葉の変形したもの), d. 退化した小穂, e. 第一苞穎, f. 第二苞穎, g, h, i. 内側の3枚の穎, j. 果実, スケールバー: 5 mm.

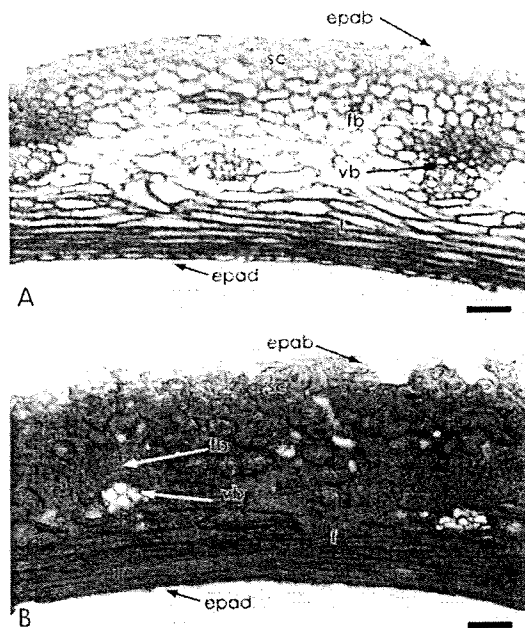


図3. ハトムギの苞鞘の横切片鏡検写真。A. 未熟期。B. 成熟期。epab. 背軸側表皮。epad. 向軸側表皮。f. 繊維。fb. 繊維束。sc. 厚壁組織。vb. 維管束。スケールバー：100 μ m。

を認めた。上端はややとがり、その付近に1個の斜めの孔があり、この孔からときに雄性小穂が脱落したあとの花柄がとびだしており、他端には果柄の跡がある。苞鞘は爪で破碎することができる。

苞鞘内部(図2)：苞鞘の中を観察すると、苞鞘内の向軸面中央に雄性小穂が脱落したあとの花柄と線形～長楕円形で膜質のりん片(苞葉の変形したもの)があり、その内側に2個の退化した小穂がある。果実は5枚の穎に包まれている。外側の2枚はそれぞれ第一苞穎、第二苞穎とみなされ、淡灰褐色～淡黄色で紙質～やや膜質、第一苞穎は第二苞穎より硬い。第一苞穎、第二苞穎とも果実全体を包む。内側の3枚目の穎は淡灰褐色～淡黄色～黄白色、膜質で内側ほど小さく薄くなる。最内のものは半透明である。果実は卵球形、淡褐色～赤褐色で硬く、腹側たて方向に凹みがある。

2) におい、味

苞鞘、果実ともにほとんどにおいがなく、味については、苞鞘は味がなく、果実はわずかに甘く、かめば歯間に粘着する。

3) 内部形態(図3, 4)

苞鞘(図3)：苞鞘の横切片を鏡検すると以下のような特徴が観察された。苞鞘の外側、内面を形態学的に正確に表現するためにそれぞれ背軸側、向軸側という表現を用いる。背軸側最外層は表皮からなる。表皮の内側に厚

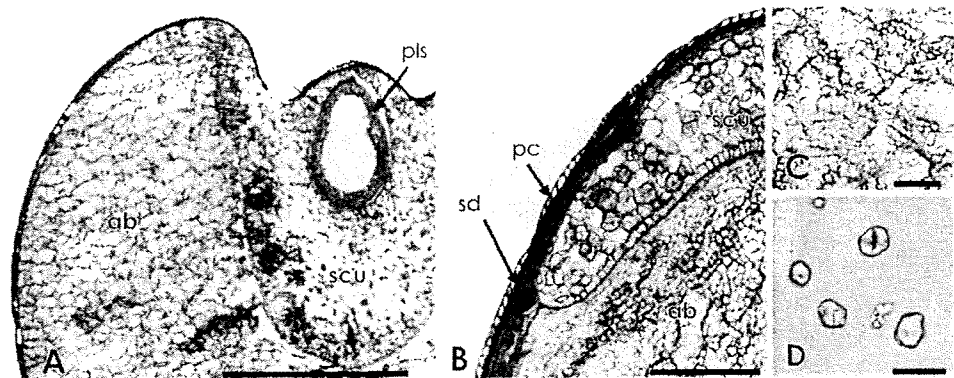


図4. ハトムギの果実。A. 果実横切片。B. 果実横切片拡大。C. でんぷん粒を含む胚乳柔組織。D. でんぷん粒。ab. 胚乳。pc. 果皮。pls. 幼芽鞘。scu. 胚盤。sd. 種皮。スケールバー：A, 1 mm, B, 100 μ m, C, 50 μ m, D, 20 μ m。

表3. ハトムギの基原と生薬の性状の規格案

日本薬局方の規格案	日本薬局方外生薬規格1989の規格
<p>ハトムギ ラテン名：COICIS FRUCTUS CUM INVOLUCRIS 英名：Coix fruit with involucre 異名：鳩麦</p>	<p>ハトムギ ラテン名：COICIS FRUCTUS</p>
<p>本品はハトムギ <i>Coix lacryma-jobi</i> Linné var. <i>mayuen</i> Stapf (<i>Gramineae</i>) の果実及び苞鞘である。</p>	<p>本品はハトムギ <i>Coix lacryma-jobi</i> Linné var. <i>ma-yuen</i> Stapf (<i>Gramineae</i>) の包しように包まれた果実である。</p>
<p>生薬の性状 本品はほぼ卵球形を呈し、長さ7～14 mm、幅5～9 mm、厚さ4～8 mmである。外面は黒褐色～灰褐色を呈し、つやがあり、細かい縦じまを認める。上端はややとがり、その付近に1個の斜めの孔があり、他端には果柄の跡がある。苞鞘は爪で破碎することができる。中に雄性小穂の花柄、膜質のりん片、2個の退化した小穂及び淡灰褐色～淡黄色でつやのある膜質の5枚の穎に包まれた1個の果実がある。果実は淡褐色～赤褐色で、質は硬い。</p>	<p>性状 本品はほぼ卵球形を呈し、長さ7～14 mm、幅5～9 mm、厚さ4～8 mmである。外面は黒褐色～灰褐色を呈する。上端はややとがり、その付近に1個の斜めの孔があり、この孔にはしばしば雄性小穂の残基があり、他端には果柄の跡がある。包しようはややつやがあり、細かい縦じまがあり、爪で破碎することができる。中に淡灰褐色でつやのある膜質のえい及び淡褐色～赤褐色の種皮を付けた種子がある。</p>
<p>本品はほとんどにおいがなく、苞鞘は味が無いが、果実はわずかに甘く、かめば歯間に粘着する。</p>	<p>本品はほとんどにおいがなく、包しようは味が無いが、果実はわずかに甘く、かめば歯間に粘着する。</p>
<p>本品の苞鞘の横切片を鏡検するとき、背軸側最外層は表皮からなり、その内側に厚壁組織が認められる。厚壁組織中の内側の部分には繊維束を伴う維管束が散在する。厚壁組織に続いて内側に横走る繊維が認められ、向軸側最外層は表皮からなる。果実中央部の横切片を鏡検するとき、表面最外部には、薄壁性の果皮及び種皮が認められる。くぼみのある腹面に沿って胚盤があり、中央に幼芽鞘または胚軸が見られる。背面側には胚盤を包む形で胚乳があり、胚乳の柔細胞にはでんぷん粒が含まれる。</p>	

壁組織が認められる。表皮と厚壁組織の最外層は部分的に脱落している。未熟な段階では厚壁組織の内側に柔組織が認められるが、成熟した段階では中央部の組織まで厚壁化が進んでいる。厚壁組織は内側の細胞ほど大きい。厚壁組織中の内側の部分には繊維束を伴う維管束が散在している。厚壁組織に続いて内側に横走る繊維が認められる。向軸側最外層は表皮からなる。

果実 (図4)：果実中央部の横切片を検鏡した結果は以下のものであった。最外部には、薄壁性の果皮及び種皮が認められる。くぼみのある腹面に沿って胚盤があり、中央には横切片の切る位置によって幼芽鞘または胚軸が見られる。背面側には胚盤を包む形で胚乳があり、胚乳の柔細胞にはでんぷん粒が含まれる。でんぷん粒は等径性で鈍多角形である。

3. 基原と生薬の性状規格案

以上の結果に基づいて、生薬ハトムギの基原と生薬の性状の規格案を表3に示す。『日本薬局方外生薬規格1989』の規格と比較するといくつかの点で規格内容が加筆修正されている。

『日本薬局方外生薬規格1989』ではハトムギの学名の種形容語のつづりに誤りがあったので訂正した。また、『日本薬局方外生薬規格1989』では変種名はハイフンの入った *ma-*

yuen だが、『第十五改正日本薬局方』既収載の薏苡仁ではハイフンのない *mayuen* となっている。*ma-yuen* とはハトムギを中国にもたらしたとされる馬援という人の名で、人名のハイフンは命名規約では削除してよいことになっており、今回の規格案では薏苡仁にあわせて *mayuen* とした。用語の訂正としては、「包しょう」は「苞鞘」にした。薬用部位の定義では「包しょうに包まれた果実」では果実だけが薬用部位の印象をあたえるので「果実及び苞鞘」とした。ラテン名、英名もそれに合わせてある。『第十五改正日本薬局方』からは、生薬の「性状」は他の化学薬品の「性状」と区別して「生薬の性状」とされた。新たに内部形態の記載を追加した。

なお、本研究の一部は厚生労働科学研究費によりなされたものである。

引用文献

- 藤田路一 1937a. 漢薬薏苡仁の生薬学的知見 (其一). 植物研究雑誌 13: 683-694.
 藤田路一 1937b. 漢薬薏苡仁の生薬学的知見 (其二). 植物研究雑誌 13: 758-774.
 厚生省薬務局審査第二課監修 1989. 日本薬局方外生薬規格 1989. 143 pp. (ハトムギ, p. 71). 薬事日報社, 東京.
 日本薬局方解説書編集委員会 2006. 第十五改正日本薬局方解説書 D662-663. 廣川書店, 東京.

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。

フェルビナク貼付剤については、貼付剤適用時のフェルビナクの体内動態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、フェルビ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ビナク貼付剤、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。フェルビナク軟膏剤として、市販の1g中フェルビナク30mg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15mmφ、セル容量7mLの拡散セルを使用し、生理食塩水を試験液とし、32℃で経時的にマニュアルで0.2mLを補液しながら押し出して採取した。試験液中のフェルビナク量は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pH6.0のリン酸緩衝液900mLを用い、32℃、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5mL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。

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、フェルビ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、白光機製のシール幅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ビナク含量の測定

膜透過試験による試験液中のフェルビナク含量は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

フェルビナクの市販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種製剤のパ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) はそのままパ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。

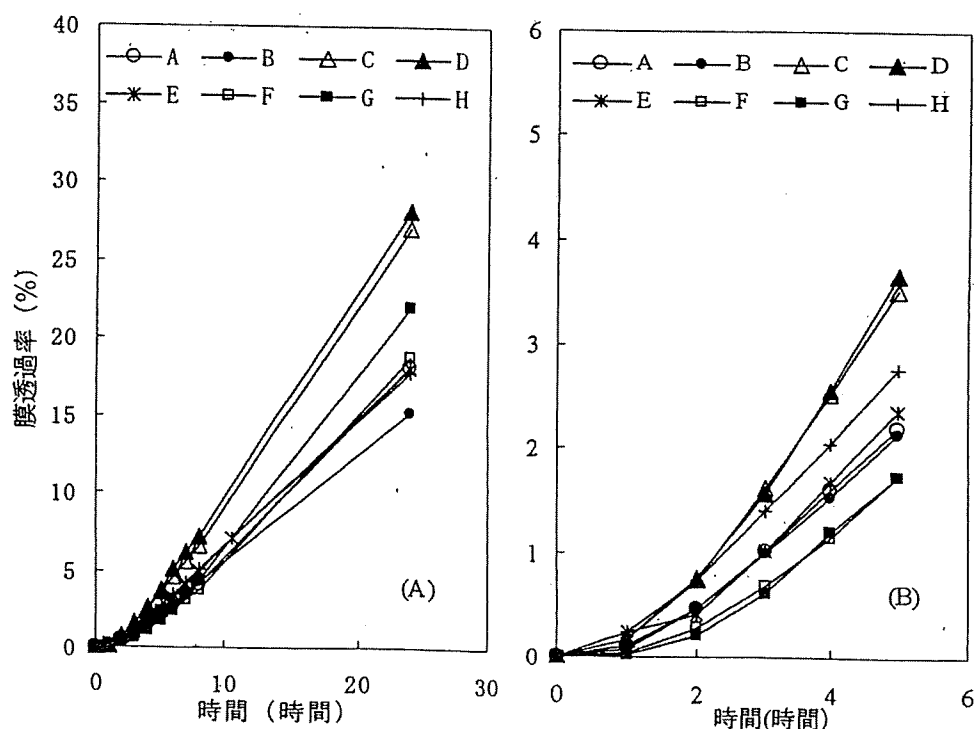


Fig. 1 フェルビナク貼付剤のヘアレスマウス皮膚透過率

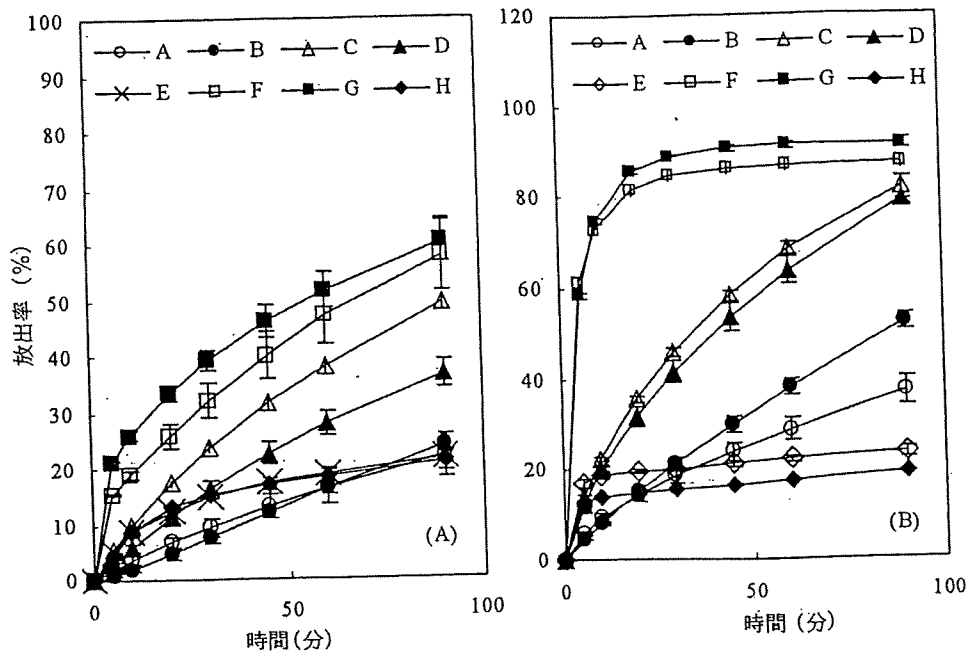


Fig. 2 フェルビナク貼付剤のパドル法による放出率
 (A) メンブランフィルターの袋状成型物による放出試験
 (B) 膜を介さない放出試験

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場合の膨潤度は大きく、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。

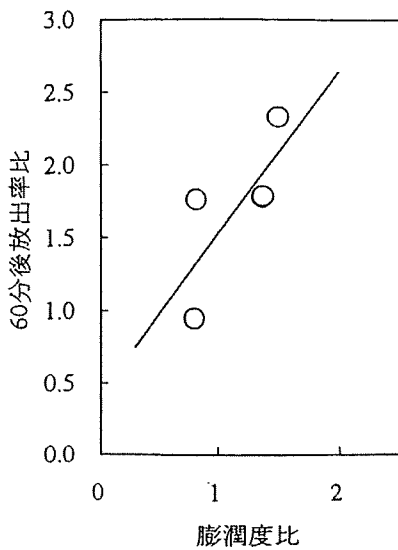


Fig. 3 フェルビナク貼付剤のメンブランフィルター膜使用の有無に基づく放出率比と膨潤度比の関係

間後では最も透過性が低いということを示している。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パドルオーバーディスクに両面テープで固定し、パ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.

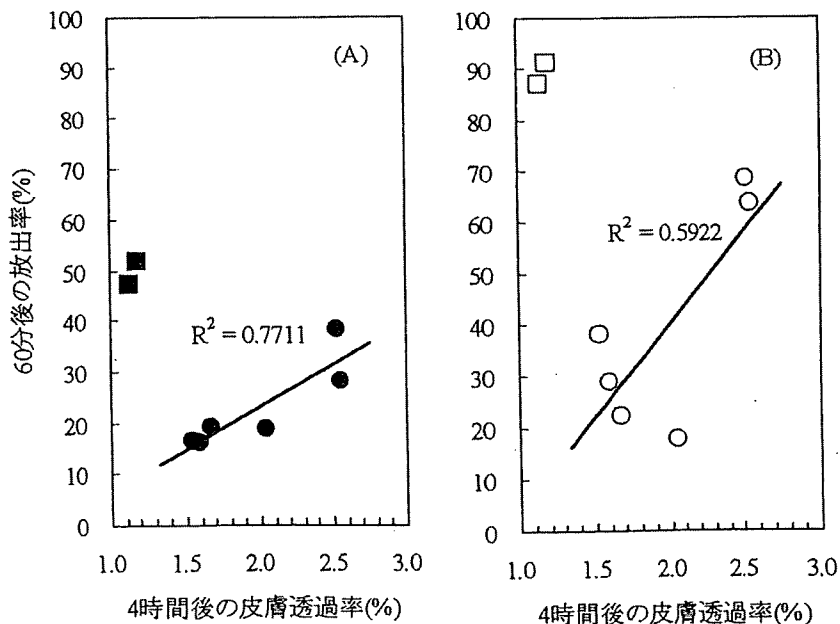


Fig. 4 ヘアレスマウスの皮膚透過率 (4 時間) と放出率 (60 分) の関係
(A) メンブランフィルターの袋状成型物による放出試験
(B) 膜を介さない放出試験

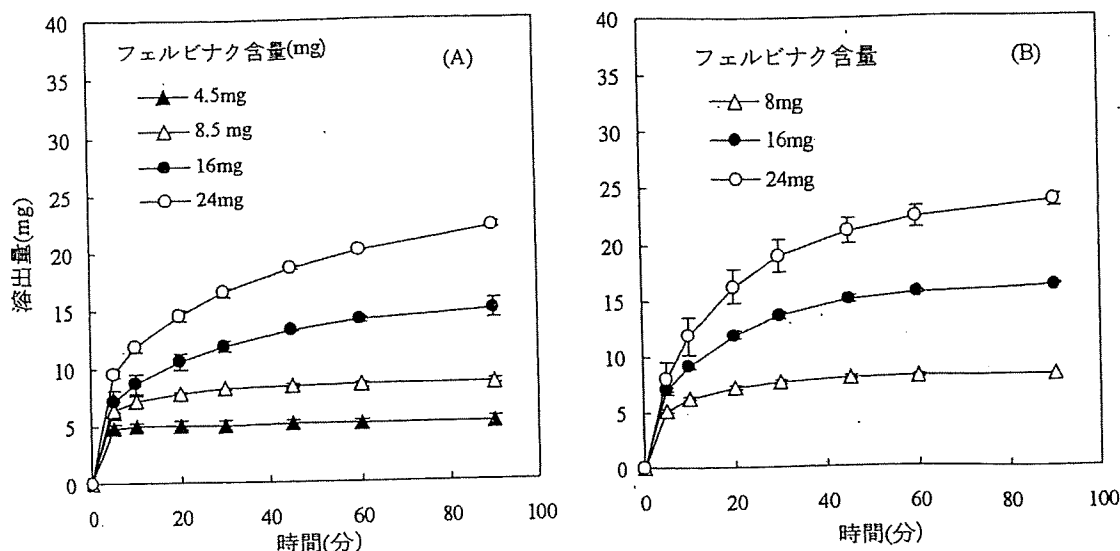


Fig. 5 フェルビナク軟膏の放出試験
(A) メンブランフィルターの袋状成型物による放出試験
(B) 軟膏セルとメンブランフィルターによる放出試験

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) から明らかなように、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。

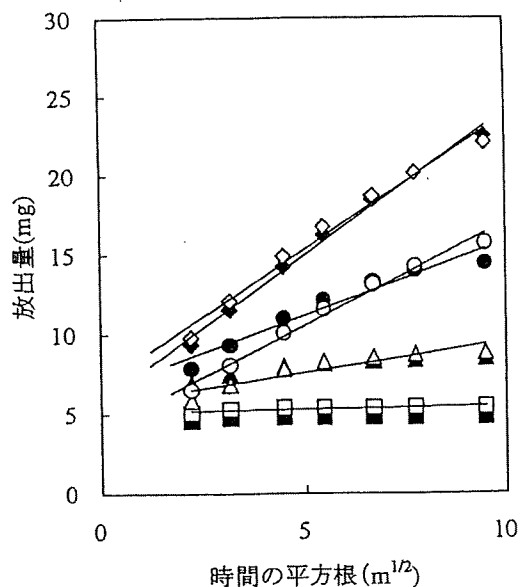


Fig. 6 Fig. 5(A) の時間の平方根に対する再プロット

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収載を目指し、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、パ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

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

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).

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、束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^{2,3)}に定めるための研究⁴⁾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。

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

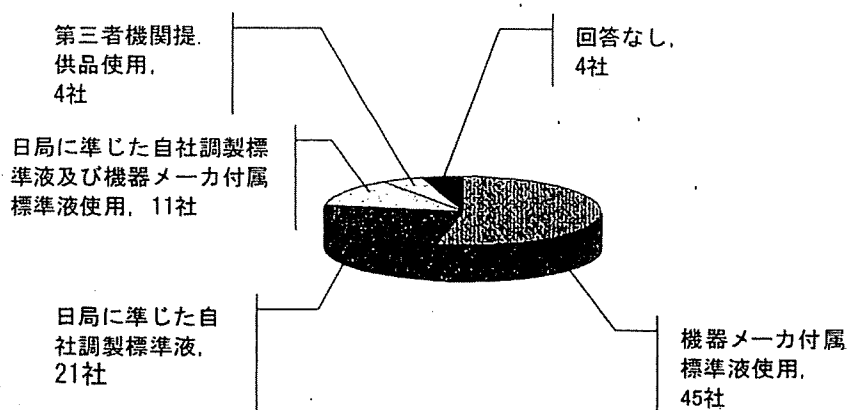


Fig. 1 校正標準液の使用実態

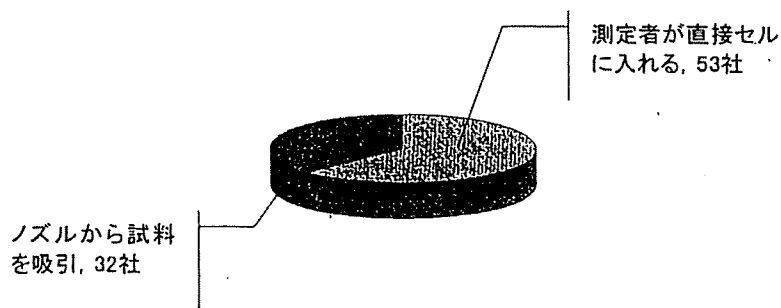


Fig. 2 試料のセッティング方式

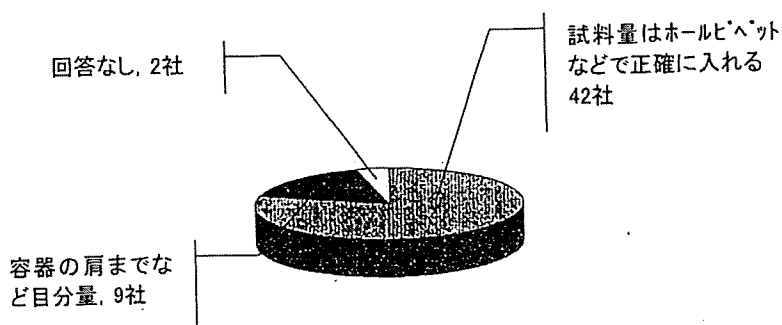


Fig. 3 測定者が直接セルに入れる場合の試料導入方法

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（硼珪酸ガラス製、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、