

較正マーカー標準品の選定を実施しており、9 機関による共同検定によって標準候補品の利用可能性を評価している。この候補品は、示差屈折率検出器を接続した GPC あるいは GPC/光散乱検出器を用いた分子量分布測定法の分子量校正マーカーとしてだけでなく、システム適合性を評価するための標準品としても適用可能であると考えられる。

C-3-2-5-4-2： その 2 (Lin Rao, Scientific Protein Laboratories)

未分画ヘパリンの分子量は、多角度光散乱検出器 (MALS) を接続したサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) により測定されている。SEC/MALS 法は、カラムのキャリブレーションのための分子量標準品を必要とせず、直接、光散乱強度から絶対分子量を得ることができる。SEC/MALS は、特異性、正確性、頑健性が高く、ヘパリンの分子量測定に適した方法である。

C-3-2-5-5： タンパク質限度試験と水分含量 (Rene fan Herpen, MSD)

USP 及び EP は、タンパク質純度試験法を紫外吸収法 ($A_{280\text{nm}}$) から、Lowry 法に変更した。Lowry 法は、希釈した Folin-C. Phenol 試薬、及び Lowry 試薬と試料を混合した後、波長 750 nm における吸光度を測定する方法である。EP 及び USP の規格値は、それぞれヘパリン (5 mg/ml) に対して 0.5% 及び 1.0% 以下である。

EP 及び USP で設定された試験法では、希釈した Folin-C. Phenol 試薬及び Lowry 試薬を添加した試料溶液の pH が 10.00 ± 0.25 になるように Folin-C. Phenol 試薬を 2~4 倍に希釈することとされている。しかし、希釈倍率を変更した Folin-C. Phenol 試薬を用いて pH を検討した結果、試料溶液の pH を 10.00 ± 0.25 にするためには、Folin-C. Phenol 試薬を 1.5~2 倍に希釈する必要があることが明らかとなり、希釈倍率の範囲が適切ではない可能性が示唆された。Folin-C. Phenol 試薬は、希釈倍率に関係なく試料溶液の pH が 10.00 ± 0.25 になるように希釈するべきである。

ヘパリンの乾燥減量試験 (LOD) では、主に

水分含量を測定する。USP 法を用いたとき、水分含量は減圧条件により異なることが明らかとなった。また、現行の LOD 法とカールフィッシャー法及びガスクロマトグラフィー法 (KF+GC 法) 間の相違は、質量百分率に換算して 1.4% であった。KF+GC 法は、LOD 法よりも正確に揮発性成分を測定することができる。

C-3.2.5.6： 核酸限度試験 (Pearle Torralba, APP Pharmaceuticals)

酵素消化法及び逆相クロマトグラフィーを組み合わせた方法は、DNA 及び RNA の定量法として有用である (定量限界、ヘパリンナトリウム含量の 0.05%)。酵素消化には、加水分解酵素として、DNA 及び RNA をヌクレオシドに変換するベンゾナーゼエンドヌクレアーゼ (BE)、ホスホジエステラーゼ (PDE) 及びアルカリホスファターゼ (AP) を用いた。試料の消化は、温度を制御したオートサンプラーを用いて HPLC バイアル中で行った。塩化アンモニウム/アセトニトリル系溶離液及び逆相カラムを用いた HPLC システムにより酵素消化物を分析した結果、9 種類の全てのヌクレオシドをベースラインで分離することができた。また、試料濃度 10 mg/ml のヘパリン溶液を用いたが、分析への影響は確認されなかった。本分析法は、核酸限度試験法として利用できる可能性が示唆された。

C-3-2-6： 力価試験

C-3-2-6-1： 欧米薬局方改正後の含量規格値への対応 (Pascal Anger, Sanofi-Aventis)

OSCS 事件後、ヘパリンの含量規格値が EP では 150 IU/mg から 180 IU/mg に、USP では 140 U/mg から 180 U/mg に厳格化された。また USP では、力価試験法がヒツジ血漿を用いた APTT 測定から発色性合成基質を用いた抗 IIa 活性試験に変更されると共に、抗 Xa/抗 IIa 活性比が 0.8~1.2 から 0.9~1.1 に改正された。

抗 IIa 活性と抗凝固活性の測定結果は、抗 IIa 活性/抗凝固活性で表すと 0.88~0.99 であり、両試験は同等ではない。このため、抗凝固活性試験では規格 (180 U/mg 以上) に適合しても、抗 IIa 活性試験では規格外 (<180 U/mg) となるバ

ッチが生じ、107 バッチ中 21 バッチが規格外となった。規格外バッチは特定の原薬製造業者のバッチに集中している傾向があるため、一部の原薬製造業者では製造工程の見直しが必要である。

ヘパリンに OSCS をスパイクすると、抗凝固活性は変わらないが、抗 IIa 活性、抗 Xa 活性は低下する。抗 IIa 活性の低下の方が顕著であるため、抗 Xa/抗 IIa 活性比は上昇する。OSCS 混入の影響がみられるのは OSCS を 10%以上添加したときであるが、抗 Xa/IIa 活性比はヘパリンの品質指標として適したものであり、異物混入の対策として、粗精製ヘパリンにおける qPCR、出荷試験における NMR、SAX-HPLC と並ぶ safeguard である。

C-3-2-6-2 ヘパリンおよび OSCS の抗凝固活性 (John Hogwood, NIBSC)

ヘパリンの力価試験法として用いられているヒツジ血漿あるいはヒト血漿を用いた抗凝固活性測定法、及び、精製タンパク質と発色性合成基質を用いた酵素活性測定法について、ヘパリン、DS、及び OSCS を試料として比活性測定を行い、得られた測定結果に基づき、試験法の特徴を比較した。

OSCS の比活性は、ヒツジ血漿を用いた試験ではヘパリンの 80%程度となったが、ヒト血漿を用いた試験ではヘパリンの 23%程度となり、OSCS の比活性は、ヒツジ血漿を用いるとヒト血漿を用いる場合の 3 倍程度の値として得られることが分かった。DS の比活性はいずれもヘパリンの 1%程度であった。また、抗凝固因子としてアンチトロンビンあるいはヘパリンコファクター-II (HCII) を用い、抗 Xa 活性および抗 IIa 活性測定を行ったところ、OSCS の比活性はヘパリンコファクター-II を用いた場合にヘパリンの 90%という高い測定値となることが分かった。したがって、ヒツジ血漿を用いた抗凝固活性試験において OSCS の比活性が高く測定される理由として、OSCS が HCII を介して抗凝固活性を発揮すること、ヒツジ血漿では HCII 活性がヒト血漿の約 5 倍と高いことが考えられた。また、ヒツジ血漿を用いた抗凝固活性試験法では、OSCS が混入していても OSCS の混入がないヘパリンと同

等の活性値が得られた。

C-3-2-6-3 : 活性測定による OSCS 混入の検出 Susanne Alban, University of Kiel; Sensitive quantification of heparin falsifications and process-related glycosaminoglycans by anti-FXa and anti FIIa assays

OSCS や GAG が heparinase に耐性であることを利用し、活性測定によりこれらの不純物を検出する方法を開発した。まず、試料を heparinase I で処理してヘパリンを分解し、次に抗 Xa 活性を測定する。ここで検出される活性は、OSCS や過硫酸化グリコサミノグリカン等の混入物質によるものである。OSCS の検出限界は 0.3%であった。Heparinase I 処理後に抗 Xa 活性が検出されない場合は、抗凝固因子として HC II を用いて抗 IIa 活性を測定し、製造工程由来不純物である GAG を検出する。GAG の検出限界は 1.0%であった。この方法により、高価な分析機器を用いなくとも、混入物質を高感度に検出できると考えられる。

C-3-2-7 : 低分子量ヘパリン

C-3-2-7-1 : USP の低分子量ヘパリン各条および一般試験法(Kristian Johansen,USP)

USP では 2009 年 12 月に、エノキサパリンナトリウム各条、エノキサパリンナトリウム注射液各条、ならびに一般試験法<207>としてエノキサパリンナトリウムの 1,6-anhydro 体の含量試験を施行した。エノキサパリンナトリウム各条では今後、基原、確認試験、重金属、pH、エンドトキシンに関して改正を検討する予定である。

さらに、一般試験法<208>として低分子量ヘパリンの抗 IIa 及び抗 Xa 活性試験、及び、一般試験法<209>として低分子量ヘパリンの分子量試験の策定を計画している。一般試験法<207>はエノキサパリンナトリウムに限られるが、<208>と<209>は全ての低分子量ヘパリン各条から参照されることになる。今後、バイオアッセイ用の低分子量ヘパリン標準品、および、分子量試験における検量線作成用標準品 (Calibrant) についても、全ての低分子量ヘパリンに共通して使用できるものを設定する予定である。

C-3-2-7-2: 低分子量ヘパリン国際標準品の更新 (Elaine Gray, NIBSC)

現在の低分子量ヘパリン国際標準品は2003年に設定されたものであり、2012年10月までに更新する必要がある。NIBSCでは三段階からなる方策により、低分子量ヘパリン国際標準品の更新を予定している。第一段階として既承認製品と入手可能な開発中製品の活性をNIBSCで測定し、第二段階として低分子量ヘパリンの製造企業との共同研究により、NIBSCにおいて標準品候補品として5サンプルを選択する。さらに第三段階として、2~3種類の候補品について、低分子量ヘパリン国際標準品策定のための共同検定を実施する。2010年10月に、第二段階の検討を開始する予定である。

C-3-2-7-3: エノキサパリンの確認試験 (Lino Liverani, Opocrin SpA)

EP及びUSPエノキサパリンナトリウム各条において確認試験として設定されている分子量試験と抗Xa/抗IIa活性試験について、同一試料を用いて両局方の試験を実施し、結果を比較した。

分子量に関する両局方の規格値は同様 (EP: 質量平均相対分子量 3800~5000, 分子量 2000 以下 12.0~20.0%, 分子量 2000~8000 68.0~82.0%; USP: 重量平均分子量 3800~5000, 分子量 2000 以下 12.0~20.0%, 分子量 2000~8000 68.0~82.0%, 分子量 8000 以上 18.0% 以下) である。いずれもサイズ排除クロマトグラフィーを用いた試験であるが、方法は異なっており、EP法ではカラムを1本用い、硫酸ナトリウム緩衝液を使用、検出器として紫外可視吸光度計と示差屈折計を接続する。各保持時間における分子量は、234nmの吸光度と示差屈折率及び分子量校正用低分子量ヘパリン標準品の平均分子量から算出する。USP法では2本のカラムを用い、硝酸リチウム緩衝液を使用、検出器として示差屈折計を接続する。分子量は、エノキサパリンナトリウム分子量校正用物質A及びBから得られた分子量校正曲線をもとに算出する。同じ試料をEP法及びUSP法で試験したところ、分子量

2000以下の分子種の含量について異なる結果となり ($p < 0.01$)、両局方の試験では異なる測定結果が得られることが明らかになった。

抗Xa/抗IIa活性比の規格値は、EP及びUSPいずれも3.3~5.3で同一である。試験法は両局方とも発色性合成基質を用いた方法であり類似している。同じ試料をEP法及びUSP法で試験したところ、抗Xa活性はEP法及びUSP法で同様の結果となった。しかし、抗IIa活性はEP法を用いた場合に高い測定値が得られ、抗Xa/抗IIa活性比は規格値の範囲ではあるものの、EP法を用いた場合に低い値が得られる結果となった。

エノキサパリンは、ヘパリンベンジルエステルのアルカリ分解により得られるが、そのアルカリ処理工程において、還元末端に1,6-アンヒドロ体 (2-N,6-O ジスルホ-D-グルコサミン (1,6-an.Glc) 及びマンノサミン (1,6-an.Man)) が生じる。USPは、2009年12月に告示された第二追補において、各条エノキサパリンナトリウムに heparinase 消化法と SAX-HPLC を組み合わせた方法による1,6-アンヒドロ体の試験法 (一般試験法〈207〉 Test for 1,6-Anhydro derivative for enoxaparin sodium) を追加している。Opocrin社が独自に開発した HSQC-NMR 法とUSP法を比較したところ、測定結果に大きな差は認められなかった。EPでは1,6-アンヒドロ体に関する試験法は設定されていない。

分子量及び活性に関する試験法の国際調和や、1,6-アンヒドロ体試験用標準品の設定が望まれる。

C-4: 生薬の試験法及び各条規格の改正に関する研究

アキョウは、ロバ *Equus asinus* の毛を去った皮、骨、けん又は、じん帯を水で加熱抽出し、脂肪を去り、濃縮乾燥したものと日本薬局方外生薬規格に規定されている生薬であり、その主な成分は、コラーゲンである。本生薬は、「一般用漢方処方の手引き」に記載される処方の約3%の処方に配合され、その中には、温経湯や猪苓湯などのように、臨床上、汎用される処方を含む事か

ら、局方収載による規格基準の標準化が望まれている。また、漢方処方については、第 15 局よりエキス製剤の収載が進められており、猪苓湯エキスも、臨床上重要な漢方処方として局方収載が望まれているが、構成生薬であるアキョウが局方外生薬であることから、見送られている。

アキョウを局方収載するためには、以下のような隘路が考えられる。抽出物を濃縮したものであるため、他の生薬と異なり、外観上の特徴に乏しい事、その構成成分の殆どは、コラーゲンであり、他のものと差別化を図る理化学試験の設定が容易ではない。本生薬は、需要のほぼ全てを海外、特に中国に依存しており、原料であるロバの調達状況、製造工程、品質管理法について、不明な点が多い。

そこで本研究では、アキョウの主産地であり、アキョウの名の由来ともなった中国、山東省東阿県にある東阿阿膠社を訪ね、原料の産地、製造工程、品質管理法などについて、聞き取り調査を行ったので報告する。

C・4-1：ショウキョウの成分含量測定法に関する検討

陶弘景著「本草経集注」において、阿膠は、「東阿に出ず、故に阿膠と曰う」との記載がある通り、東阿は、古くよりアキョウの産地として知られる地である。この地がアキョウの産地として好まれた理由は詳らかではないが、古典の記述からは、この地の井戸水を伝統的にアキョウの生産に用いたことによることが窺える。実際、今回の訪問においても、東阿阿膠社の説明者からは、この地の水質の良さを主張する言葉が多く聞かれた。東阿の東に位置する泰山より流れ落ちた雨水が大きな地下水脈となり、その地下水を地下 300 m からくみ上げ、阿膠生産に使用しているとのことだった。水質としては、Na, Ca, Mg, Sr などの微量元素の量が他の地域の地下水に比べ多い事が分かっているようであるが、阿膠の品質との関係は、不明である。

東阿阿膠社は、この地に中国政府の援助を得て、1952 年に、社員 13 名で設立された（当時は国営）。1993 年に民営化され、現在は、社員 5000 名を数え、敷地面積 38 万平米の広大な社有地には、原料倉庫、工場、研究所、博物館、社員住居、公園などを擁する他、中国国内の 13 箇

所にロバの生産拠点（基地）を持つ、アキョウ生産のトップメーカーとして、中国国内において約 75%、輸出品として約 90% のシェアを有することだった。

年間に消費されるロバの頭数は、約 130 万頭とのことで、上述の生産基地では、1.5 才まで飼育した後、と殺し、皮を乾燥させ、東阿の原料倉庫に運ばれるとのことだった。1.5 才以降は、阿膠の品質に変化が無い事が確かめられているためとのことだったが、品質の評価基準が何であるかについては、説明が無かった。また、生産基地からの供給で賄えない場合は、農家より購入する他、イランより輸入する場合もあるとのことだった。ロバの品種は 11 種があるとのことだった。

生産工程は、中国政府（科学技術部及び国家秘密局）より科学技術保密規定、国家秘密技術法により、内密技術として認定されているとのことで、残念ながら、今回見学する事は出来ず、代わりに博物館内を案内された。館内には、上述の東阿の水質やロバの生産基地の紹介や古典の展示、かつてのアキョウ生産（ロバの皮剥ぎ、乾燥、煮出し、濃縮、成形）の様子を示す壁画や模型の他、東阿阿膠社がこれまで中央政府や山東省及び万国博覧会で受けた賞のメダルや阿膠生産技術に対して中央政府より送られた非物質文化遺産（日本における無形文化財に相当か？）の賞状などが展示されていたが、現代のアキョウ生産に直接繋がる情報は得られなかった。また、館内の多くは撮影禁止だったため、画像資料も得られなかった。

次に、東阿阿膠社の各種製品（保健用食品を含む）の試飲、試食や阿膠の簡易真贋鑑定法の紹介を受けた。簡易真贋鑑定法では、板状のアキョウに温かい息を吹きかけ、匂いをかいだ時に嫌な匂いがしないものが本物との事で、東阿阿膠社製のアキョウを渡され、実際に行ってみたが、偽物の標品がなかったため、その鑑別能力は評価出来なかった。また、トップメーカーである東阿阿膠社製のアキョウのパッケージを模倣した偽物も多く流通していることから、その対策にも力を入れており、本物は、パッケージの「阿膠」の文字に凹凸が付けられている点などを説明された。また、本物と偽物のパッケージ例を掲載した「阿膠真偽鑑別手帳（漢字は一部変換している）」を作

成しており、今回、資料として譲り受けた。手帳内には、偽パッケージが、20 例以上掲載されており、偽物の流通の根深さを伺わせた。

その後、アキョウの生産工程や品質管理体制などについての議論を行った。阿膠及び黄明膠(牛皮を使用し、阿膠と同様に調製したもの)の生産に際して、黄酒、冰糖、豆油などが添加されており、このことは 中華人民共和国薬典 (CP) の阿膠の項にも記載されている(黄明膠は CP 非収載)が、その目的や量、国内用、輸出向けの別について質問したところ、量はそれほど多い量ではないとの曖昧な回答であった。事前に(株)ウチダ和漢薬の調べで、スクロース含量は、10%未満であるとの情報を得ていたため、それ以上、追求はしなかった。添加目的に関しては、黄酒については、一応、臭み消しの目的との回答があったが、むしろ伝統的にこれらが添加されてきており、それを踏襲してきているという意味合いが強いとのことだった。冰糖を入れることにより、水分活性を落として防腐剤としての効果が期待出来るのではないかと質問したが、量的にそれほど多くないため、その効果を期待して入れているのではないとの回答だった。また、高温多湿さえ避ければ、防腐、防虫に関しては、植物由来の生薬よりむしろ気を遣わないとのことだった。添加剤としては、他に植物性の生薬や精油を添加する場合があるとのことだった。国内用、輸出用の別については、基本的に変わらないとの回答だった。

品質管理法について、DNA 情報を用いた方法や特徴的なペプチドの GPC による分析などが中国国内の大学と東阿阿膠社との共同研究で論文報告がなされているが、実用しているかについて尋ねたところ、品質管理方法としては、CP に定められている 4 種のアミノ酸 (OH-Pro, Gly, Ala, Pro) 分析、揮発性塩基性成分の定量、水不溶性物質試験など、CP の基準に従って行っているとのことで、実用はしていないようだった。ただし、東阿阿膠社は、CP の阿膠の項の制作者の一員となっており、近い将来、DNA を用いた方法を取り入れる予定とのことだった。中国におけるアキョウ生産業者の数は、約 20 社とのことだったが、CP に DNA を用いた方法が入った場合、他の業者も実行可能かについて質問したと

ころ、問題無いとの回答だった。

また、共同研究としてアミノ酸組成の多変量解析による真贋鑑別法の開発を提案したところ、既に各動物種由来のペプチドのアミノ酸配列を分析した結果、部位によるアミノ酸組成の違いは見られるが、種による違いはほとんど無かったことから、否定的な様子だった。

近い将来、DNA 鑑別法が CP へ収載予定とのことだったので、日本でも検討を行うため、その検討用試料の分与をお願いしたところ、了解との回答を得た。

C-5 : 医薬品添加剤の各条規格の改正に関する研究

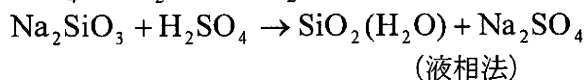
医薬品添加剤は人体に対する作用が緩和ないしは無害であるという特徴とともに、医薬品製剤の必須の構成成分として、薬物療法におけるコンプライアンスや、有効成分の体内送達を確保するという重要な役割を全面的に担っている。医薬品添加剤は、全世界で多くの医薬品に共通に使われ、流通が極めて国際的であるため、先進諸国の薬局方に添加剤の品質に関する情報を規格として収載する意義は極めて大きく、国際調和が強く望まれている。現在、日本薬局方(日局)、欧州薬局方(EP)、米国薬局方(USP)の3局の間で、60余りの添加剤について調和作業が続けられている。医薬品添加剤の多くは用途が食品、食品添加物、工業製品として使用される。天然物や化学的に合成されたものなど複数の起原をもつ医薬品添加剤もある。不純物プロファイルが異なることから、局方間で起原が異なると調和を妨げる場合がある。

本研究においては複数の起原が存在する二酸化ケイ素と炭酸カルシウムについて、局方各条の国際調和に当たっての問題点を抽出し、その解決に向けた考察を行った。また、添加剤中の金属イオン不純物による医薬品製剤の潜在的不安定化の可能性について考察した。

C-5-1 : 二酸化ケイ素

二酸化ケイ素は日局に「軽質無水ケイ酸」、薬添基に「含水二酸化ケイ素」が収載されている。

二酸化ケイ素は粉体の流動性改善, 錠剤硬度の上昇, 液体原薬の粉末化などの目的で使用される。気相法と液相法の 2 つの方法により合成されたものが医薬品添加剤として流通している。気相法はケイ素塩化物を気化し, 高温の水素炎中において気相反応によってシリカ微粒子を合成するものである。一方の液相法はケイ酸ナトリウムなどのケイ酸塩の水溶液を硫酸などの鉱酸で中和することにより二酸化ケイ素として沈殿させる方法である。



スキーム 1 二酸化ケイ素の合成法

日局の「軽質無水ケイ酸」, 薬添基の「含水二酸化ケイ素」に対応すると考えられるものとして, EP には「SILICA, COLLOIDAL, ANHYDROUS」と「SILICA, COLLOIDAL, HYDRATED」, USP の NF には「Colloidal Silicon Dioxide」と「Silicon Dioxide」の各条がある。

日局の「軽質無水ケイ酸」と薬添基の「含水二酸化ケイ素」は二酸化ケイ素の含量, 乾燥減量および強熱減量の規格値に差がある。また, 「軽質無水ケイ酸」では純度試験に塩化物試験が設定されているのに対し, 「含水二酸化ケイ素」では硫酸塩試験が設定されている。

USP/NF においては各条の Definition に合成方法が記載されており, 「Silicon Dioxide」, 「Dental-Type Silica」は液相法, 「Colloidal Silicon Dioxide」は気相法で合成されたものである。

EP の「SILICA, COLLOIDAL, ANHYDROUS」は Characters の項に粒子径が約 15nm であることが記されており, 純度試験に塩化物試験が設定されているのに対し, 「SILICA, COLLOIDAL, HYDRATED」では, 粒子サイズの記載はなく, 純度試験として塩化物試験に加え, 硫酸塩, 鉄の試験が設定されている。合成法は記載されていないが, 純度試験の設定項目から EP の「SILICA, COLLOIDAL, ANHYDROUS」は気相法, 「SILICA, COLLOIDAL, HYDRATED」は液相法で合成されることが推察される。

二酸化ケイ素(Silicon Dioxide)と微粒子二酸化ケイ素(Silicon Dioxide, Colloidal)の国際調和にあたって, これらの品目をいかに区別するかが問題となっている。日局の「軽質無水ケイ酸」に該当するとして液相法で合成された二酸化ケイ素が国内で流通していることから(阿曾分担研究資料 2), 日局の「軽質無水ケイ酸」が微粒子二酸化ケイ素(Silicon Dioxide, Colloidal)に対応し, 薬添基「含水二酸化ケイ素」が二酸化ケイ素(Silicon Dioxide)に 1 対 1 に対応しているか懸念される。国内の流通品の調査が必要であると思われる。

C-5-2: 炭酸カルシウム

医薬品添加剤としての炭酸カルシウムは日局には「沈降炭酸カルシウム」, 薬添基には「炭酸カルシウム」が記載されている。炭酸カルシウムは制酸剤や高リン血症治療剤など有効成分として使われる他に, 糖衣錠の糖衣などに用いられる。炭酸カルシウムは製法により大きく二つに分類され, 天然物である石灰岩を粉砕, 精製した重質炭酸カルシウムと合成によって製造した沈降炭酸カルシウムに分けられる。

沈降炭酸カルシウムの合成は主に以下に示す方法で行われる。

- (1) 石灰乳+炭酸ガス反応法
 $\text{CaCO}_3 \rightarrow \text{CaO} + \text{CO}_2 \uparrow$ (焼成)
 $\text{CaO} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}(\text{OH})_2$ (消化)
 $\text{Ca}(\text{OH})_2 + \text{CO}_2 \rightarrow \text{CaCO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ (炭酸化)
- (2) 塩化カルシウム+ソーダ灰反応法
 $\text{CaCl}_2 + \text{Na}_2\text{CO}_3 \rightarrow \text{CaCO}_3 + 2\text{NaCl}$
- (3) 石灰乳+ソーダ灰反応法
 $\text{Ca}(\text{OH})_2 + \text{Na}_2\text{CO}_3 \rightarrow \text{CaCO}_3 + 2\text{NaOH}$

日本の沈降炭酸カルシウムは(1)の炭酸ガス反応法で製造されている。この方法は石灰石を石灰焼成炉で無煙炭又はコークスとともに焼成して, 生石灰とし, その生石灰に水を加えてできた石灰乳に, 石灰石を焼成した時に発生した炭酸ガスを反応させ, 均一な粒子の沈降炭酸カルシウムを生成させる方法である。欧米では(2)または(3)の溶液反応による製造法が採用されている。

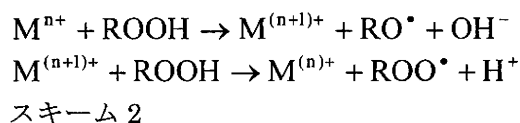
日局「沈降炭酸カルシウム」において純度試験

として、酸不要物、重金属、バリウム、マグネシウム及びアルカリ金属、ヒ素が設定されている。薬添基「炭酸カルシウム」ではヒ素の限度値が4ppm(日局:5ppm)である点を除き同じ規格試験法が設定されている。EPにおいては純度試験として、酸不溶物、重金属、バリウム、マグネシウム及びアルカリ金属、ヒ素に加え、塩化物、硫酸塩、鉄の試験規格が設定されている。USPにおいては日局で設定していない鉄、フッ素、鉛、水銀も純度試験に設定されている。純度試験の項目を見る限りUSPの「Calcium Carbonate」には天然物由来の炭酸カルシウムも局方品として認められるように思われる。日局「沈降炭酸カルシウム」には純度試験として水銀や鉄試験は設定されておらず、製法上、水銀や鉄イオンの混入の可能性はないと思われる。国際調和によって天然物由来の炭酸カルシウムも日局品として含まれるようになると、水銀などの有害な金属不純物の管理が必要になることが問題となるばかりでなく、沈降炭酸カルシウムから天然物由来の炭酸カルシウムに処方を変更することにより、鉄イオンの存在が許容されることになり、以下の節に述べるように金属イオン不純物により製剤の安定性に関して潜在的な問題が生じる可能性が考えられる。従って、沈降炭酸カルシウムと不純物プロファイルが大きく異なる天然物由来の炭酸カルシウムは沈降炭酸カルシウムとは異なる各条にすべきであると考えられる。

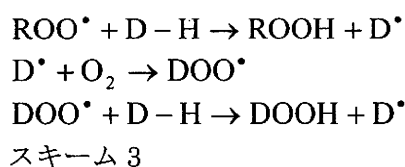
C-5-3：酸化を受けやすい薬物の保存安定性及ばす医薬品添加剤中の金属性不純物の潜在的影響

医薬品添加物中の金属性不純物として、鉛、水銀、カドミウム、ヒ素などは主に安全性の観点から規格が定められている。それに対し、鉄イオンなどは食品としても摂取されるため安全性の観点からは問題になりにくいと思われる。しかし、鉄イオンや銅イオンなどの複数の荷電状態をとりうる金属イオンは酸化還元反応を行うため、医薬品の品質に影響を及ぼす可能性を有する。鉄イオンなどの複数のイオン価をもつ金属イオン(M^{n+})は過酸化物($ROOH$, 有機過酸化物, 過酸化水素を含む)を分解し、その結果、アルコキシラ

ジカル($RO\cdot$)や過酸化物ラジカル($ROO\cdot$)が生成する。(スキーム2)。



これらのラジカルは連鎖反応の開始剤として働き、酸化を受けやすい原薬(D·H)の分解を引き起こす可能性を有する(スキーム3)(*J. Pharm. Sci.* (2001) 90, 253-269)。



一般的に用いられる添加剤であるポビドンやPEG,ヒドロキシプロピルセルロースなどに過酸化物が存在することが報告されている(阿曾分担報告 Table 1)。これらの過酸化物は薬物の酸化反応を引き起こす可能性を有する。錠剤中のRaloxifene 塩酸塩の酸化分解は添加剤として加えられたポビドン中の過酸化物の直接的な反応と言われている(*Pharm. Dev. Tech.* (2000) 53, 303-310)。一方、Tetrazepamのようにラジカルによって酸化反応が引き起こされる薬物では、鉄などの金属イオン不純物と過酸化物との反応によって生成したラジカルによって、酸化分解が加速される可能性がある(*J. Pharm. Sci.* (1992) 81, 183-185)。

C-6：理化学試験法の改正に関する研究

色の許容範囲は、目視で色の比較液と較べてそれよりも薄いかどうかで判断されている。色の許容範囲は色差計のような測色器を用いて、その色単位や指数で判断することもできる。しかし、過去に色の比較液を用いていた規格を機器分析に移行させるためには、従来の適合品と、規格限度付近の製品などが必要となり、規格設定には慎重を要するとおもわれる。しかし、新規に規格設定する場合には、個々の製品の特性に応じて適切な

規格を設定すれば、十分に適用可能であると考えられる。従って、本報告では、まず日局及び USP で使用している色の比較液と EP で使用している色の標準液を比較し、その類似性を明らかにすると共に、それぞれの色の溶液を、積分球方式の分光光度計及び通常分析用の分光光度計により測定して、結果を比較検討し、汎用機による測定が可能であるか検討した。

C-6-1： 日局及び USP の色の比較液と、EP の色の標準液の組成の比較

日局と USP の色の比較液は同じであり、塩化コバルト(II)の色の比較原液、塩化鉄(III)の色の比較原液、硫酸銅(II)の色の比較原液を四方田分担報告表 1 に示すような比率で混合希釈している。EP の場合には原液の組成そのものはほぼ類似している。

同表 1 の右側に、比較液と標準原液で、組成比が同じもの同士に同じマークを付した。F と Y, G と BY, O と GY では、全く同じ組成となっており、S と R では R の方が同じ組成でも、全体として 5 倍の濃度となっており、T と B では、B の方が同組成比で 3 倍の濃度となっている。四方田分担報告表 2 には、EP の一連の色の標準液と、日局の同組成の液の関係を示した。T は B3 と B4 の中間にあたり、S は R5 と R6 の中間に位置している。G は BY1 と、F は Y1 と O は Y とは同じであるが、EP の標準液は全てこれよりは薄く希釈されている。

同表 2 の関係を使えば、医薬品各条で比較液の調製方法を記載して、EP の標準液に対応できている。例えば、オルシプレナリン塩酸塩では、T 3mL に薄めた塩酸 (1→40)1mL を加えて、BY2 を調製している。日局の比較液が水で調製されているため、希釈に薄めた塩酸を用いている各条が多いが、無水クエン酸では水で希釈しており、医薬品各条での調製方法は様々である。16 局で新たに、色の比較液が溶状に設定されたものは、アシクロビル (Y7)、アミダオロン塩酸塩 (BY5)、シラスタチンナトリウム (Y6)、プレドニゾロンリン酸エステルナトリウム (B4)、フロモキセフナトリウム、プロモクリプチンメシル酸塩 (BY4)、メロペネム水和物、ラタモキセフナトリウムの 8

つがあり、EP の標準溶液に相当するものは、括弧内に示した 5 つ、他の 3 つは原液の混合比から EP の標準液に相当していない。ただし、メロペネム水和物は EP の医薬品各条では Y5 を使用しており、これらに関しては、再度、規格設定時の原案が、もともと特殊な混合比で規格設定されていたのか確認する必要があると思われる。

C-6-2： 日局の色の比較液の機器測定における機器による影響

日局の色の比較液と、その水による希釈液を、積分球方式の分光光度計 (spectrocolorimeter) 及び通常分析用の分光光度計 (spectrophotometer) を用いて測定して、色のパラメーター L^* , a^* , b^* を求めた。

四方田分担報告表 3 に、二種類の機器による、日局の色の比較液の測定値を示した。両者はかなり類似した結果を与えたが、測定値が小さいほど、両者の値の差が大きくなる傾向が見られた。しかし、色のパラメーターはある範囲の中であれば同じと捉えられることから、規格値の幅のなかでのばらつき程度と考えられる。従って、必ずしも専用の色差計を用いなくても、通常分析用の分光光度計での測定で十分対応可能と考えられた。

さらに、二種類の分光光度計を用いて、日局の色の比較液を水で希釈した一連の測定値を四方田分担報告図 1 に示した。比較的色の濃い、N, O, J, K, L, M では、希釈するにつれて曲線は大きくカーブし、希釈により色のパラメーターは直線的には減少しない。従って、これらの機器測定によるパラメーターを用いて規格を設定するには、なるべく色の薄い、直線性が保たれる領域での限度規格設定が望ましい。また、同じような色の領域でも、測定対象医薬品によって、直線の範囲が変わることも考慮する必要がある。また、比較的色の薄い、右下側に集まっている P, Q, R, T では、機器による測定値の差がかなり大きいことも明らかとなった。規格幅の設定では、機器の差も考慮しておかなくてはならず、今後さらに主なメーカーの分光光度計での、機種間差を検討する必要があると思われる。

同図 2 には、通常分析用の分光光度計で測定した、EP の色の標準液の a^*b^* 値を図示した。実際に、

溶状で使用されている標準液はごく薄い領域が多く、現在、日局の各条で使用されているのは、B4, BY2, BY5, BY4, BY6, Y6, Y7, GY7であり、まだRシリーズは例が見られない。16局で新たに採用された溶状試験には日局の色の比較液は使用されておらず、ほとんどがEPの標準液で、一般試験法には収載されていないために、もとの原液からの調製法を記載しているが、各条ごとに同じ液であっても表現が様々で、どのEP標準液に対応しているのか直に判断できない。

今後、より分かりやすい規格を目指すためには、収載数が今後も増えると考えられるEPの標準液の試薬試液としての収載が望ましいと思われる。

C-7: 製剤および製剤試験法の改正に関する研究

日本薬局方は医療用医薬品、OTC医薬品、生薬含有製剤、薬局製剤、院内製剤すべてを対象としている。したがって、このたびの製剤総則改定は極めて大きな改訂であり、製薬企業、医療関係者、関連研究機関等への周知をはかることが重要である。また各条収載製剤についても、総則改定にあわせて、記載の整備を徹底することが必要である。

(2) また大きな課題としては、一般試験法に記載のない製剤特性の試験法の設定がある。現在「適切な〇〇性を有する」としてある製剤特性について、可能なものから一般試験法の整備が必要である。この中には国際調和で取り上げられている試験法などがあり、近々に整備が可能と考えられる。

(3) このたびの製剤総則改正の方針の一つは「国際的整合性」にあった。製剤の分類および定義、製剤試験内容については、欧米の動向をみながら改正を行った。しかし一方で欧米の薬局方も改正の議論を行っているところである。したがって、日本薬局方としても改正内容に関する情報発信を積極的に行い、欧米薬局方と齟齬ができないように注意を払う必要がある。

(4) さらに、将来にわたっての課題としては、今後も医療現場において導入され標準的に用いられるようになった新規製剤については、速やかに製剤各条へ収載するよう、フォローアップが重要である。

(5) 製剤通則8に記したような非無菌製剤に関する微生物混入への配慮については、パブリックコメントにおいて、適用すべき微生物限度試験を適用すべきケースについて、具体的な記述を求める意見が寄せられた。したがってこの点を何らかまとめる必要がある。

(6) 製剤通則10に関する容器・包装については、新薬については、容器施栓系という用語がICHで仕様されている。また一次容器、二次容器という用語も使われており、局方医薬品を対象とする薬局方の、容器、包装と用語がことなる。したがって今後容器・包装について、薬局方における容器・包装関係の用語、およびその定義を整理する必要がある。その上で、医薬品の一定性確保の観点から、容器・包装に記載を整備する必要がある。あわせて、容器・包装に関する試験法も整備が必要と思われる。

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

日本薬局方(JP)には我が国で使用されている主要な医薬品が収載され、公的な規格書である。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は、医薬品の情報記載の規範を示しておりその波及効果は大きい。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、ケミカル・アブストラクツ・サービス(CAS)登録番号(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、医薬品の製造・品質管理の高度化と国際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う。

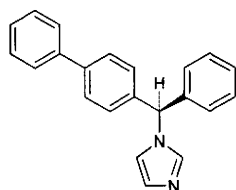
今年度は、第16改正日本薬局方(JP16)収載予定の医薬品の化学名および構造式について、国際調和の観点および局方全体の整合性の面から記載事項を検討し、修正の必要な項目を明らかにした。

C-8-1 : methane 置換体の化学名に関する調査

JP15 既収載の「ビホナゾール」や「クロトリマゾール」など methane 置換体の化学名において、methane に置換するすべての置換基を括弧で囲んでいる場合と置換基を囲っていない場合があり、局方全体で整合性がとれていない。

JP15 収載品目のうち括弧で囲んでいない例:「ビホナゾール」

1-[(*RS*)-(Biphenyl-4-yl)phenylmethyl]-1*H*-imidazole



及び鏡像異性体

図1 ビホナゾール

JP15 収載品目のうち括弧で囲んである例:

「クロトリマゾール」

1-[(2-Chlorophenyl)(diphenyl)methyl]-1*H*-imidazole

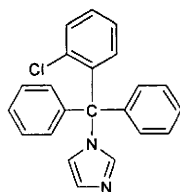


図2 クロトリマゾール

methane 置換体の化学名は、methane に置換するすべての置換基を括弧で囲んだ化学名のほうが構造式の理解が容易であることから、「ビホナゾール」の化学名を methane に置換するすべ

ての置換基を括弧で囲んだ化学名に修正することが望ましい。

「ビホナゾール」

新化学名 (JP16):

1-[(*RS*)-(Biphenyl-4-yl)(phenyl)methyl]-1*H*-imidazole

同様に、「クロペラスチン塩酸塩」、「ヒドロキシジン塩酸塩」、「ヒドロキシジnPAMO酸塩」、「セチリジン塩酸塩」などの化学名も修正が必要である。

「クロペラスチン塩酸塩」

旧化学名 (JP15):

1-{2-[(*RS*)-(4-Chlorophenyl)phenylmethoxy]ethyl}piperidine monohydrochloride

新化学名 (JP16):

1-{2-[(*RS*)-(4-Chlorophenyl)(phenyl)methoxy]ethyl}piperidine monohydrochloride

「ヒドロキシジン塩酸塩」

旧化学名 (JP15):

2-(2-{4-[(*RS*)-(4-Chlorophenyl)phenylmethyl]piperazin-1-yl}ethoxy)ethanol dihydrochloride

新化学名 (JP16):

2-(2-{4-[(*RS*)-(4-Chlorophenyl)(phenyl)methyl]piperazin-1-yl}ethoxy)ethanol dihydrochloride

「セチリジン塩酸塩」

旧化学名 (JP15):

2-(2-{4-[(*RS*)-(4-Chlorophenyl)phenylmethyl]piperazin-1-yl}ethoxy)acetic acid dihydrochloride

新化学名 (JP16):

2-(2-{4-[(*RS*)-(4-Chlorophenyl)(phenyl)methyl]piperazin-1-yl}ethoxy)acetic acid dihydrochloride

C-8-2 : クロメン構造を有する医薬品の化学名の調査

JP15 既収載の「クロモグリク酸ナトリウム」

や「ブクモロール塩酸塩」などクロメン構造を有する医薬品の化学名において、「ブクモロール塩酸塩」のように「chromene」を用いて化学名を表記する場合と、「クロモグリク酸ナトリウム」のように「1-benzopyran」を用いて化学名を表記する場合とが混在しており、局方全体で整合性がとれていない。

JP15 収載品目のうち「chromene」を用いた例：

「ブクモロール塩酸塩」

8-[(2*RS*)-3-[(1,1-Dimethylethyl)amino]-2-hydroxypropyloxy]-5-methylchromen-2-one monohydrochloride

JP15 収載品目のうち「1-benzopyran」を用いた例：

「クロモグリク酸ナトリウム」

Disodium

5,5'-(2-hydroxytrimethylenedioxy)bis(4-oxo-4*H*-1-benzopyran-2-carboxylate)

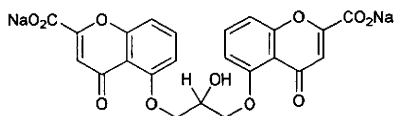


図2 クロモグリク酸ナトリウム

「chromene」は、IUPACで使用が認められている慣用名であり、「chromene」を用いた化学名で統一することが望ましい。

「クロモグリク酸ナトリウム」

新化学名 (JP16) : Disodium

5,5'-(2-hydroxypropane-1,3-diyl)bis(oxy)bis(4-oxo-4*H*-chromene-2-carboxylate)

C-8-3 : トシル酸塩の化学名の調査

IUPAC の勧告(2003)で、トシル酸塩の慣用名である「tosylate」は、酸の名前を命名するのに使用しない、となっている。JP15では、「トスフロキサシントシル酸塩」などトシル酸塩の化学名に「tosylate」を用いている。

JP15 収載品目のうち「tosylate」を用いた例：

「トスフロキサシントシル酸塩」

7-[(3*RS*)-3-Aminopyrrolidin-1-yl]-1-(2,4-difluorophenyl)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydro-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid monotosylate monohydrate

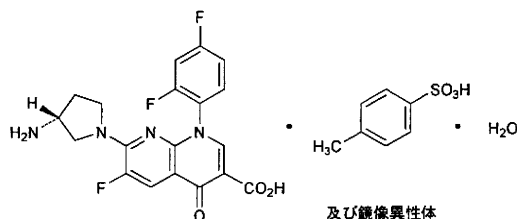


図3 トスフロキサシントシル酸塩

「トスフロキサシントシル酸塩」の化学名は、「4-toluenesulfonate」を用いて命名するのが望ましい。

「トスフロキサシントシル酸塩」

新化学名 (JP16) :

7-[(3*RS*)-3-Aminopyrrolidin-1-yl]-1-(2,4-difluorophenyl)-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydro-1,8-naphthyridine-3-carboxylic acid mono(4-toluenesulfonate) monohydrate

同様に、「スルタミシリントシル酸塩水和物」の化学名も変更することが望ましい。

「スルタミシリントシル酸塩水和物」

旧化学名 (JP15) :

(2*S*, 5*R*)-(3,3-Dimethyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-ylcarbonyloxy)methyl (2*S*, 5*R*, 6*R*)-6-[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetamino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylate monotosylate dihydrate

新化学名 (JP16) :

(2*S*, 5*R*)-(3,3-Dimethyl-4,4,7-trioxo-4-thia-1-

-azabicyclo[3.2.0]hept-2-ylcarbonyloxy)methyl (2*S*, 5*R*, 6*R*)-6-[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl-amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylate mono(4-toluenesulfonate) dehydrate

C-8-4: ステロイド類のリン酸エステルナトリウムの化学名の調査

ステロイド類のリン酸エステルナトリウムの化学名における「sodium」の記載位置について検討した。JP15では、「sodium」を化学名全体の頭に置いて「Sodium ○○ phosphate」としている。(○○はステロイド部分の化学名を示す)

JP15 収載品目のうち「Sodium ○○ phosphate」の例:

「プレドニゾンリン酸エステルナトリウム」
Disodium 11*β*, 17, 21-trihydroxypregna-1, 4-diene-3, 20-dione 21-phosphate

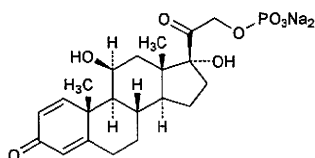


図4 プレドニゾンリン酸エステルナトリウム

ステロイド類のリン酸エステルナトリウムの化学名は、「sodium」を「phosphate」の直前に置いて「○○ (sodium phosphate)」としたほうが適切であると考えられる。JP16では、このように記載することが望ましい。

「プレドニゾンリン酸エステルナトリウム」
新化学名 (JP16):
11*β*, 17, 21-Trihydroxypregna-1, 4-diene-3, 20-dione 21-(disodium phosphate)

同様に、以下の JP 収載品目の化学名も変更が必要である。

「ベタメタゾンリン酸エステルナトリウム」

旧化学名 (JP15):
Disodium 9-fluoro-11*β*, 17, 21-trihydroxy-16*β*-methylpregna-1, 4-diene-3, 20-dione 21-phosphate
新化学名 (JP16):
9-Fluoro-11*β*, 17, 21-trihydroxy-16*β*-methylpregna-1, 4-diene-3, 20-dione 21-(disodium phosphate)

「ヒドロコルチゾンリン酸エステルナトリウム」

旧化学名 (JP15):
Disodium 11*β*, 17, 21-trihydroxypregna-4-ene-3, 20-dione 21-phosphate
新化学名 (JP16):
11*β*, 17, 21-Trihydroxypregna-4-ene-3, 20-dione 21-(disodium phosphate)

「デキサメタゾンリン酸エステルナトリウム」

旧化学名 (JAN 名)
Disodium 9-fluoro-11*β*, 17, 21-trihydroxy-16*α*-methylpregna-1, 4-diene-3, 20-dione 21-phosphate
新化学名 (JP16 新収載)
9-Fluoro-11*β*, 17, 21-trihydroxy-16*α*-methylpregna-1, 4-diene-3, 20-dione 21-(disodium phosphate)

C-8-5: ステロイド類の化学名の調査

JP 既収載の「スピロノラクトン」の化学名において、17位の置換基の位置番号が「17*B*」となっているが、17*α*-pregnane 骨格をもつ「スピロノラクトン」では、17位の置換基に「*B*」は不要である。

JP15 収載品目のうち「17*B*」を用いた例:

「スピロノラクトン」
7*α*-Acetylsulfanyl-3-oxo-17*α*-pregna-4-ene-21, 17*β*-carbolactone

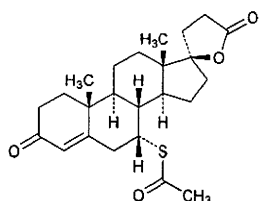


図5 スピロノラクトン

17 α -pregnane 骨格をもつ「スピロノラクトン」では、17位の置換基に「B」を付けるのは正しくない。「17B」を「17」に修正する必要がある。

「スピロノラクトン」

新化学名 (JP16) :

7 α -Acetylsulfanyl-3-oxo-17 α -pregn-4-ene-21, 17-carbolactone

JP 既記載の「エチニルエストラジオール」の化学名は、estrane 骨格を採用した化学名が使われている。

JP15 記載品目のうち estrane 骨格を採用した化学名の例 :

「エチニルエストラジオール」

17 α -Ethynylestra-1, 3, 5(10)-triene-3, 17 β -diol

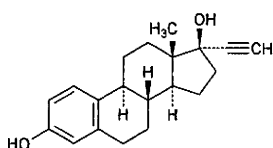


図6 エチニルエストラジオール

一方、類似構造を持つ JP 既記載医薬品である「メストラノール」、「ノルエチステロン」、「ノルゲストレル」の化学名は、19-nor-17 α -pregnane 骨格を用いて命名されている。

JP15 記載品目のうち 19-nor-17 α -pregnane 骨格

を用いた例 :

「メストラノール」

3-Methoxy-19-nor-17 α -pregna-

1, 3, 5(10)-trien-20-yn-17-ol

JP 記載品目の化学名の命名法の整合性を図るため、「エチニルエストラジオール」の化学名は、19-nor-17 α -pregnane 骨格を採用した化学名に変更することが望ましい。

「エチニルエストラジオール」

新化学名 (JP16) :

19-Nor-17 α -pregna-1, 3, 5(10)-

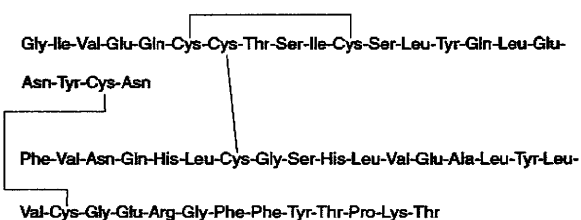
triene-20-yne-3, 17-diol

C-8-6 : ペプチド系の医薬品の構造式の調査

JP では、アミノ酸残基の数が概ね 20 までのペプチド系の医薬品の構造式はアミノ酸の 3 文字表記を用いてペプチド構造を記載し、アミノ酸残基の数が概ね 21 以上のペプチド系医薬品の構造式はアミノ酸の 1 文字表記を用いてペプチド構造を表記している。しかし、JP15 ではアミノ酸残基の数が 20 以上の一部の記載医薬品で 3 文字表記を用いてペプチド構造を記載している例があった。

JP15 記載のペプチド系の医薬品のうちアミノ酸残基の数が 20 以上でアミノ酸 3 文字表記をしている例 :

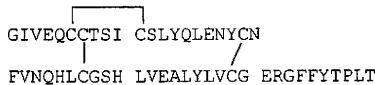
「ヒトインスリン(遺伝子組換え)」



「ヒトインスリン(遺伝子組換え)」の構造式は、アミノ酸の 1 文字表記を用いて記載することが望ましい。

「ヒトインスリン(遺伝子組換え)」

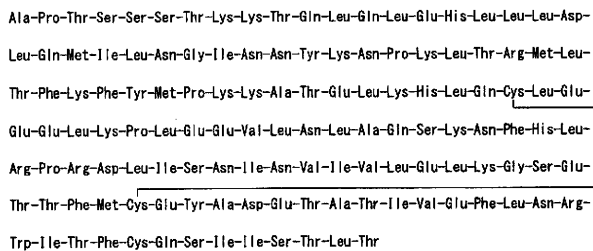
新構造式 (JP16) :



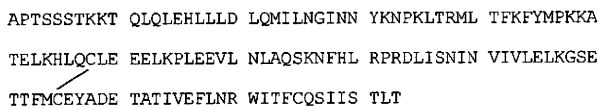
同様に, JP15 記載の「セルモロイキン (遺伝子組換え)」、「テセロイキン (遺伝子組換え)」、「リゾチーム塩酸塩」、「ジノスタチン スチマラマー」のアミノ酸残基部分についても, アミノ酸の 1 文字表記を用いた構造式に修正し, JP 全体で整合性をとることが望ましい。

「セルモロイキン (遺伝子組換え)」

旧構造式 (JP15) :

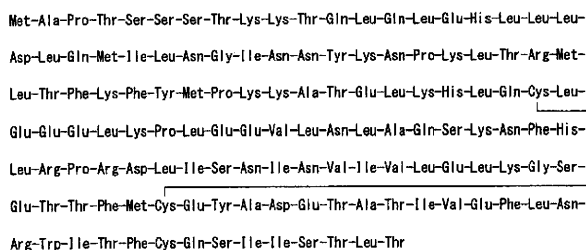


新構造式 (JP16) :

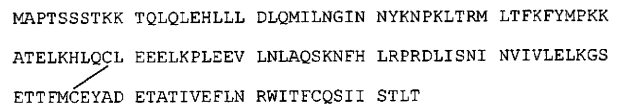


「テセロイキン (遺伝子組換え)」

旧構造式 (JP15) :

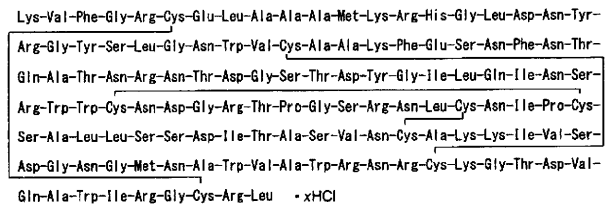


新構造式 (JP16) :

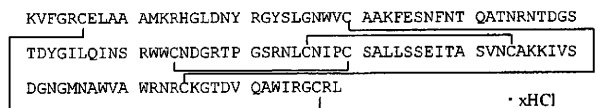


「リゾチーム塩酸塩」

旧構造式 (JP15) :

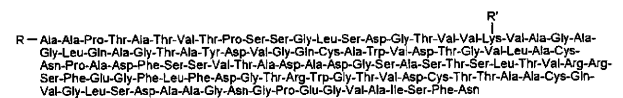


新構造式 (JP16) :

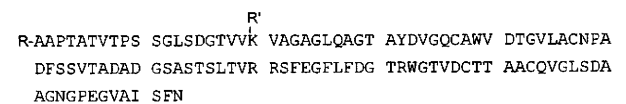


「ジノスタチン スチマラマー」のアミノ酸残基部分

旧構造式 (JP15) :



新構造式 (JP16) :

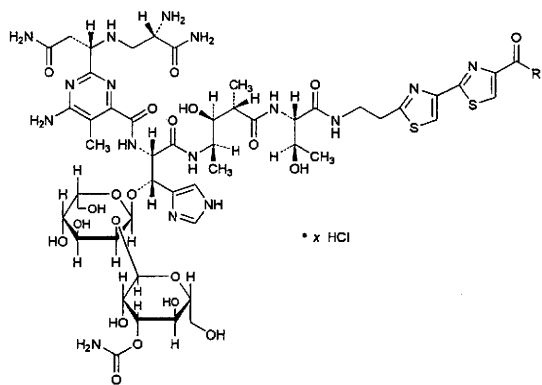


C-8-7: 医薬品の構造式の側鎖 R の表記法の調査

JP 既記載の構造式の側鎖 R の書き方について調査した結果, 側鎖の根本 (本体と結合する部分) の結合肢を水平に書いている構造式と斜めに書いている構造式があり, 局方全体で整合性がとれてないことがわかった。

JP15 記載品目のうち構造式の側鎖 R の結合肢が水平に書かれている例:

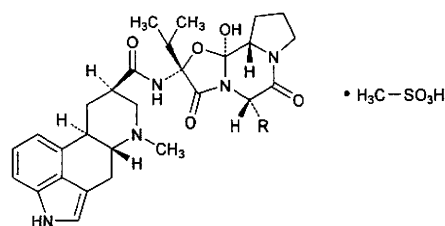
「ブレオマイシン塩酸塩」



- ブレオマイシン酸 : R = —OH
- ブレオマイシン A₁ : R = —N(CH₂)₄—S(=O)₂—CH₃
- ブレオマイシンデメチル-A₂ : R = —N(CH₂)₄—S—CH₃
- ブレオマイシン A₂ : R = —N(CH₂)₄—S⁺(CH₃)₂—CH₃ · X⁻
- ブレオマイシン A₂₋₄ : R = —N(CH₂)₄—NH₂
- ブレオマイシン A₂₋₆ : R = —N(CH₂)₄—NH₂
- ブレオマイシン A₅ : R = —N(CH₂)₄—N(CH₂)₄—NH₂
- ブレオマイシン B₁ : R = —NH₂
- ブレオマイシン B₂ : R = —N(CH₂)₄—N(CH₂)₄—N(CH₂)₄—NH₂
- ブレオマイシン B₄ : R = —N(CH₂)₄—N(CH₂)₄—N(CH₂)₄—N(CH₂)₄—NH₂

JP15 掲載品目のうち構造式の側鎖 R の結合肢が斜めに書かれている例：

「ジヒドロエルゴトキシニンメシル酸塩」

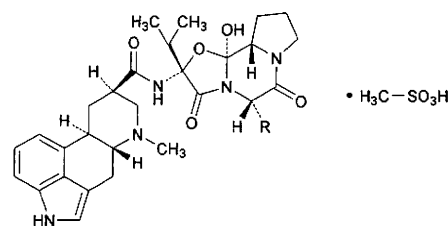


- ジヒドロエルゴコルニンメシル酸塩 : R = —CH(CH₃)—CH₃
- ジヒドロ-α-エルゴクリプテンメシル酸塩 : R = —CH(CH₃)—CH₂—CH₃
- ジヒドロ-β-エルゴクリプテンメシル酸塩 : R = —CH(CH₃)—CH₂—CH₃
- ジヒドロエルゴクリステンメシル酸塩 : R = —CH₂—C₆H₅

このように JP15 では側鎖 R の結合肢の表記に不整合がある。JP16 では、側鎖 R の結合肢を水平

な表記で統一することを提案する。

「ジヒドロエルゴトキシニンメシル酸塩」
新構造式 (JP16) :



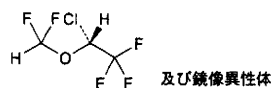
- ジヒドロエルゴコルニンメシル酸塩 : R = —CH(CH₃)—CH₃
- ジヒドロ-α-エルゴクリプテンメシル酸塩 : R = —CH(CH₃)—CH₂—CH₃
- ジヒドロ-β-エルゴクリプテンメシル酸塩 : R = —CH(CH₃)—CH₂—CH₃
- ジヒドロエルゴクリステンメシル酸塩 : R = —CH₂—C₆H₅

「キタサマイシン」, 「キタサマイシン酢酸エステル」, 「キタサマイシン酒石酸塩」, 「ジヒドロエルゴトキシニンメシル酸塩」, 「スピラマイシン酢酸エステル」, 「テイコプラニン」, 「ブレオマイシン硫酸塩」, 「ヘパリンカルシウム」などの構造式の側鎖 R の表記についても同様に変更が必要である。

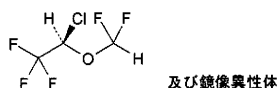
C-8-8 : フルラン類の構造式の調査

JP 掲載のフルラン類の構造式の表記を調査した結果、不整合があることがわかった。フルラン類の構造式は、WHO の医薬品構造式表記のガイドラインに従い、アルキル主鎖 (長い方のアルキル鎖) の位置番号が右から左に大きくなるような構造式で表記することが望ましい。このルールに従い、「イソフルラン」と「エンフルラン」の構造式の修正を提案する。

「イソフルラン」
旧構造式 (JP15) :

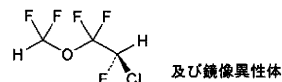


新構造式 (JP16) :

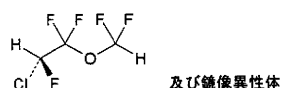


「エンフルラン」

旧構造式 (JP15) :



新構造式 (JP16) :



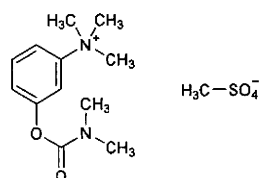
フルラン類のうち、「セボフルラン」および「ハロタン」については、構造式の変更は不要である。

C-8-1-9: 硫酸エステルの構造式の調査

JP15 では、硫酸基を「 -SO_4 」と表記している。しかし、WHO の医薬品構造式表記のガイドラインでは、炭素原子から非炭素原子に結合が伸びる場合には結合する原子を結合肢の先に明示することを提案している。この記載ルールに従うと、硫酸基は「 -OSO_3 」と表記することになる。

JP15 収載で硫酸基を「 -SO_4 」と表記している例:

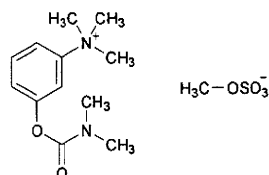
「ネオスチグミンメチル硫酸塩」



「ネオスチグミンメチル硫酸塩」のメチル硫酸の構造は、WHO のガイドラインに従い「 -OSO_3 」で表示するのが適切である。

「ネオスチグミンメチル硫酸塩」

新構造式 (JP16) :



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

平成 22 年度は 2 回の PDG 会議及び ICHQ4B 会議が開かれた。PDG 会議では、1 項目の医薬品添加物各条が新規に国際調和に至った。改定項目数は、一般試験法 2、医薬品添加物が 5 であった。これらは、JP16、2012 年 9 月の JP16 第一追補、2014 年 9 月の JP16 第二追補に収載予定である。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 27 項目、医薬品添加物 62 項目中 41 項目となった。

新規の調和項目候補としては、Q4B から提案された一般試験法の中で、Chromatography を調和項目とするか否かの検討を行い、福岡における専門家における face-to-face 会議を経て、正式項目として採択した。あわせて Colour についても漸く試験法に関する技術的な議論が開始された。一方、Tri-PEC (現在の IPEC) から提案された医薬品添加物の新規調和候補に関しては、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。

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については、新たにポリアクリルアミド電気泳動法、溶出試験法、エンドトキシン試験法、ペプチドマップ法の 4 項目について検討が開始され、CP が指名された。一方医薬品添加物の改正項目として、エチルセルロースが採択された。

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 1 1 項目のうち、平成 22 年度においては、溶出試験法 Rev.2 が step4 として合意に達した。なお、製剤均一性試験法、エンドトキシン試験法については内容的には step4 に合意済みと

なったが、各国への取り込みの確認を待っている状況にある。Colourについては、Q4Bの評価対象から削除された。なお追加的にQ4B取り上げられた5項目の試験法のうち、粒度測定法(ふるい分け法)、キャピラリー電気泳動法がstep 4としてそれぞれ合意に達した。

そのほか、三局での歩調を合わせることが困難なテーマについては、PDGの枠内(一局は局方取り込みを行わないことを前提)、あるいは枠外(Prospective Harmonizationのように、一局は加わらないで調和を行うが、PDGの場で情報交換は行う)での二局間調和を行っている。

ICHQ4Bでの規制当局の受け入れのための活動については、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の提案がなされてきたが、ICHの専門家会議は常設的なものではなく、当初の目標はほぼ達成したということを経由に、ICH運営委員会において残された課題の処理およびメンテナンスのためのAd-hocな活動を除いてQ4B活動の終了が決定された。

以上のように、PDGでの調和対象とされている一般試験法および医薬品添加物各条の国際調和は順調に進捗したが、これらの活動をより効率的に行うために実施している作業課題の進捗確認のための電話会議は毎月定期的に実施されており、JPも平成22年7月よりWebExを利用したWeb会議方式を主催するなど、会議の効率化は著しい。またPDG関連文書を集約して保管、利用する共通のWeb siteの開発は、EPおよびUSPによる基盤整備段階をへて、さらに福岡会議のJPへの講習を経てJPも参加し、開発も第二段階に入った。

日米欧の局方の国際調和を推進するPDG活動そのものは以前に比べて活発化しており、JPは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で積極的に表明してきた。しかしながら、一方で薬局方の国際調和の環境も変わりつつある。Q4B活動の事実上の終了(ICH活動の低下)にも象徴されるように、医薬品の国際化の流

れにおける日米欧局方の国際調和体制の比重の低下がみられる。USPおよびEPは現在世界的規模で国際的交流活動を活発化している。JPの今後の課題は、USP、EPに加えて、その他の国々との国際的交流への対応策を策定することにあるとも思われる。

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

我々はNMRを駆使した新たな分析技術の開発研究をメタボロミクスを含め実施してきた。従来、メタボロームの解析手法として質量分析法が主流であるのは、代謝物質の高感度検出が可能であり、プロファイリングにおいて有用性が広く認められたことが理由の一つと考えられる。しかしながら、質量分析法からの分子構造の決定は困難であることから、近年はNMRを利用したメタボローム解析が注目されており、毒性評価手法の開発およびバイオマーカーの特定に役立っている。我々は、NMR法によるメタボローム解析手法を高分子医薬品への品質管理に応用すべく研究を行ってきており、あらたな品質評価手法の開発を目指す。

本研究では、3種のインスリン分子種(ヒト、ウシ、ブタ)をモデルに用いて、僅かにアミノ酸配列が異なる高分子医薬品の解析にNMR法が有効であるか検討した。

本実験で用いた3種のインスリンは、全て51個のアミノ酸残基から構成されており、ヒトのアミノ酸配列に対してウシのアミノ酸配列は3箇所異なり、ブタのアミノ酸配列は1箇所異なっている。通常、分子量6,000位の幾つかの高分子化合物の¹H-NMRを測定しスペクトルを比較した場合、1~3個のアミノ酸残基の違いをスペクトルから区別することは極めて困難である。しかしながら、3種類のインスリンの複雑な¹H-NMRスペクトルは、統計解析処理をすることによって、数個のアミノ酸残基による種差の違いを判別することに成功した。

これら3種類のインスリンは、¹H-NMRスペクトルをPCAで統計処理することによって、数個のアミノ酸残基の違いによる変動を第一主成分(PC1)と第二主成分(PC2)で捉えることが

可能となり、種差の違いを明確に区別できることがわかった。また、スコアプロットでは単独、および2種類と3種類のインスリン混合物が組成比によって系統的に三角相図に分布することがわかった。このスコアプロットを利用することによって、アミノ酸配列の違いと混合物の組成比の解析が可能となる。

インスリンの¹H-NMRスペクトルは全領域を縮約したデータの他に、脂肪族領域及び、アミド領域のみの部分的な縮約データについてもPCAを実施した。その結果、各スペクトル領域でのスコアプロット(PC1-PC2)の分布はローディングとトレンドプロットによる主成分の解析から、いずれも種に特徴的なアミノ酸の違いを反映しており、3種のインスリンを明確に区別することができた。さらに、複数の種によるインスリン混合物はスコアプロット上の三角相図に系統的に分布しており、脂肪族領域やアミド領域による部分的なデータを用いても全て判別できることがわかった。例えばスペクトルの全領域、脂肪族領域、およびアミド領域の全ての範囲においてヒトとウシのインスリン(A, C)の混合比はPC1に大きく依存しており、ヒトとブタのインスリン(A, B)の混合比およびウシとブタのインスリン(B, C)の混合比は主にPC2に依存している。また、ヒト、ウシ、ブタの3種混合物では三角相図のほぼ中心に1:1:1混合物が位置し、混合比が変化すると主要な分子種の主成分の影響を受けて相対的な位置が変化している。

これらの結果を利用することにより、未知の混合比のインスリンについてもスコアプロットからPC1またはPC2での相対的な位置を解析することによって混合比の予測が可能となる。アミド領域のみのスコアプロットでも、スペクトル全体および脂肪族領域と同様の傾向を示していることは特筆すべきであり、アミド領域をPCAで統計解析することによって3種のインスリン種差の区別が可能であることが示された。

以上、¹H-NMRスペクトルをPCAで統計解析して明らかとなった主成分は、インスリンの種差に伴うアミノ酸残基の一次構造を反映しており、¹H-NMRとPCAを組み合わせた手法が医薬品の品質評価法として利用できる可能性が明らかに

された。

本実験では、種差に伴うインスリンの一次構造の違いがPCAの結果に大きく反映したが、主成分の変動に起因するシグナルの中で、種差に特徴的なアミノ酸の一次構造に帰属できないシグナルも複数存在し、高次構造の違いも主成分に反映されていることが推測された。この結果は、¹H-NMRスペクトルを用いた統計解析手法が高分子の高次構造の評価にも有効であることを示唆している。現在、3種のインスリンの高次構造の違いを検討するために、空間的に近い水素原子の相対配置を帰属するNOESY測定法を実施することにより、本実験のPCA解析結果がインスリンの高次構造の違いについてどのように反映しているか検討中である。

D・3： 生物医薬品の試験法及び各条の改正に関する研究

D-3-1 糖鎖のLC/MSの要件

本研究によって得られた結果を参考にグラファイトカーボンカラムを接続したLC/MS及びLC/MS/MSを用いた、糖タンパク質の糖鎖分析の要点を以下のように整理した。

(1) *N*-結合型糖鎖の遊離に当たっては、糖鎖の切り出しを容易にするため、はじめに、ジスルフィド結合の還元とチオール基のアルキル化を行い、つぎに、酵素処理等により糖鎖を切り出し、LCカラム内でアノマーが分離されることを防ぐために還元末端をNaBH₄で還元する。グラファイトカーボンが充填された固相抽出管を用いて試料を脱塩し、遊離糖鎖を回収する。*O*-結合型糖鎖は□脱離法により遊離させる。別に、ヒドラジンを用いて*N*-結合型糖鎖及び*O*-結合型糖鎖を切り出す方法がある。

(2) 遊離糖鎖をグラファイトカーボンカラムを接続したHPLCに注入し、マススペクトルを取得する。スキャンごとに、もっともピーク強度の高いイオンを前駆イオンとしてMS/MSを行う。ポジティブイオンモードで測定した後、必要に応じてネガティブイオンモードで測定する。装置の仕様によっては、ポジティブイオンモードで検出されない糖鎖、あるいはネガティブイオンモードで検出されない糖鎖があることに注意する。

(3) HPLC によって得られたクロマトグラムが糖鎖の分布の特徴を表しているときは、糖鎖プロフィールとして扱うことができる。但し、糖鎖のイオン化効率は構造によって異なるので、ピーク面積比は結合比を正確に表していないことに留意する。

(4) MS により得られたモノアイソトピックピークの m/z 値から、糖鎖の質量を求める。糖鎖構成元素の主同位体質量を加算して得られる計算質量と、実験により得られた質量を照合することにより、単糖組成を推定することができる。川崎分担報告表 2 に糖鎖構成元素の主同位体質量を示す。分子量が大きい糖鎖を質量分解能が十分でない分析計を用いて測定するとき、モノアイソトピックピークが分離されないことがある。そのときは表 2 の原子量を用いて計算質量を求め、実験により得られた平均質量と照合する。質量測定中にシアル酸や硫酸基が解離するケースがあることに注意する。

(5) 糖鎖を CID により開裂させると、通常、グリコシド結合が開裂して、非還元末端側を含む B イオンと、還元末端側を含む Y イオンが生じる。B イオンは非還元末端側から順に $B_{1,2,\dots,m}$ と、また Y イオンは還元末端側から順に $Y_{1,2,\dots,n}$ と表記する。これらのフラグメントを組み合わせることにより、ある程度糖鎖構造を推定することが可能である。プロダクトイオンスペクトル上のフラグメントのピーク強度から結合様式等を推定する例もみられるが、フラグメンテーションパターンは装置の仕様に依存することに注意する。

(6) MS により単糖組成が判明しても、可能な組み合わせはたくさんあるので、構造解析においては、MS/MS だけでなく、エキソグリコシダーゼ消化法など他の分析方法と MS を組み合わせるのも一考である。

D-3-2：国際調査から明らかになった日局の課題

D-3-2-1：ヘパリンナトリウム各条改正の現状

日米欧薬局方ヘパリンナトリウム改正の現状を川崎分担報告表 3 に示した。各局とも OSCS を検出可能な試験を設定しており、USP では $^1\text{H-NMR}$ を用いた確認試験、 $^1\text{H-NMR}$ あるいは SAX-HPLC を用いた OSCS 純度試験、及び、高

性能陰イオン交換クロマトグラフィー/パルスドアンペロメトリー検出器 (HPAEC/PAD) を用いたガラクトサミン純度試験により OSCS の混入が検出される。EP では、 $^1\text{H-NMR}$ を用いた確認試験、及び、亜硝酸分解と SAX-HPLC を用いた類縁物質純度試験により OSCS の混入が検出される。日局では、 $^1\text{H-NMR}$ を用いた OSCS 純度試験、WAX-HPLC を用いた類縁物質純度試験、及び HPLC/FD を用いたガラクトサミン純度試験により OSCS が検出される。日局の OSCS 純度試験における OSCS 限度値は 0.1% である。

OSCS はコンドロイチン硫酸 (CS) の誘導体であるが、DS や CS 等のガラクトサミノグリカンは製造工程由来不純物としてヘパリン原薬中に残存している。そのため、各局ともにガラクトサミノグリカンの純度試験を設定しており、USP では HPAEC/PAD、EP では亜硝酸分解 SAX-HPLC、日局では HPLC/FD を採用している。日局法では、試料を酸加水分解した後に、4-aminobenzoic acid ethyl ester (ABEE) で蛍光標識し、標識されたガラクトサミンを HPLC/FD で分離定量する。この方法の特徴は、DS や CS 等のガラクトサミノグリカンの標準物質が不要であること、HPAEC/PAD のような特殊な装置を必要としないことである。日局におけるガラクトサミン含有多糖の限度値は 1% であり、USP と同じであるが、EP では 2% である。

理化学試験法を用いた確認試験および純度試験の拡充に加えて、EP では含量規格値の改正、USP では力価試験法と含量規格値の改正が行われている。EP では、力価試験法はヒツジ血漿を用いた抗凝固活性試験のまま変更されていないが、含量規格値が 150 IU/mg から 180 IU/mg に厳格化された。USP では、力価試験法を抗凝固活性試験から発色性合成基質を用いた抗 IIa 活性試験に変更すると共に、含量規格値を 140 U/mg から 180 IU/mg に厳格化した。さらに、確認試験として設定されている抗 Xa/抗 IIa 活性比を 0.9~1.1 に厳格化した。USP では USP 単位、日局では日局単位を用いているが、いずれも標準品は国際標準品を参照して値付けされており、EP では国際単位が用いられている。日局では力価試験法として抗 Xa 活性試験を用いてお

り、力価試験法が各局により異なっていることは考慮する必要があるが、180 U/mg と設定されている欧米の含量規格値に比べ、日局の規格値は130 U/mg と低い値となっている。日局の規格値は、1971年に告示された第8改正から変更されておらず、現在の国際的水準を参考に見直す必要があると考えられる。また、抗 Xa/抗 IIa 活性比がヘパリンの品質特性の指標として有用であると考えられるため、日局でも抗 IIa 活性の設定が必要と考えられる。力価試験および含量規格値の見直しの他、タンパク質や核酸の限度試験についても、見直す必要があると考えられる。

D-3-2-2：ヘパリン製剤の品質確保

ヘパリンは不均一性の高い多糖類であり、抗凝固因子アンチトロンビンとの結合部位である5糖構造の含量などを人工的に制御することは困難である。したがって、ヘパリン製剤の品質の一定性確保のためには、原料や製造工程の管理と品質試験の双方を適切に実施する必要がある。

我が国で市販されているヘパリン製剤は、製造販売業者が海外から原薬を輸入し、製剤化しているものが少なくない。製造販売業者は原薬の製造工程管理や品質確保においても責任を負うが、自らが原薬の製造を行う場合と比較して、その製造工程や品質に関する理解が限定的になるのはやむを得ないと考えられる。また、製造工程と品質の関連解析に基づき、原薬の品質管理手法を自ら構築していくことは不可能である。このようなケースでは、第一に、原薬の品質試験により品質確保を図ることが重要であり、局方収載品であるヘパリンナトリウムおよびヘパリンカルシウムでは日本薬局方各条が果たす役割が大きい。今後も、国際的動向を見極めながら、我が国に流通するヘパリン製剤の品質確保のために、日本薬局方ヘパリン各条試験法の改正を進めていく必要があると考えられる。EPのように Definition に続き、Production の項を設けて、原材料や製造工程の管理に関する留意事項を書くことも一案かと思われる。

品質試験が最重要である一方で、ヘパリン製剤の製造に関わる製造販売業者が、原材料や製造工程の管理に関する最新の情報を原薬製造業者等

から適切に入手し、知識管理や品質リスクマネジメントを含む品質システムを適切に実践していくことも、製品の品質確保に重要であることは言うまでもない。ヘパリン製剤では、原材料の調達や品質に国際的な情勢が大きく影響し、粗精製品の調製までにも多くのステップがある。また、原薬輸入及び製剤の製造販売を行っている会社が多数ある。このようなケースでは、最新の国際動向に基づく知識管理を効率よく行い、各社が品質システムを確実に実践していくために、規制側からの情報提供も有用であると考えられる。

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

今回の訪問の目的のうち、共同研究用試料の分与については、蔡先生の口添えもありメドが立ったが、もう一つの目的である現地視察については、国家機密に阻まれ不可能であった。これは、今後の交渉でも実現は難しいのではないかとと思われる。

局方収載に際して懸案となっていたアキョウの基原については、CPにも規定があることから、ロバを用いたものが正品であるとの認識があるのは間違いないが、アキョウは、人参、鹿茸と共に滋補三大宝として、高貴薬に類し、比較的高値の生薬であるため、他の動物種基原や悪質なものでは靴や鞆由来の偽物が出回りやすい状況のようである。このため、既に東阿阿膠社が中国国内の大学機関と検討している通り、真贋鑑定法の確立が急がれる。

今後の方針としては、現在、論文報告されているアキョウからのDNA調製法の追試を行うとともに、ペプチド分析あるいはアミノ酸組成分析により、CPが規定する4種のアミノ酸分析の妥当性を検証することにより、上述した偽物を排除可能か判断し、局方試験法の設定の一助にするべきである。

また、中国国内の市場調査を行い、偽物の入手も試みる必要があると思われる。

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

不純物プロファイルが日局「沈降炭酸カルシウ