

201235002A

厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業

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のための研究

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 川西 徹

平成 25 (2013) 年 4 月

厚生労働科学研究費補助金

医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業

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のための研究

平成 24 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 川西 徹

平成 25 (2013) 年 4 月

目 次

I.	総括研究報告	1
	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のための研究 川 西 徹	
II.	分担研究報告	
	1. 局方国際調和の促進に関する研究	9
	川 西 徹	
	2. 化学医薬品の試験法及び各条の規格の改正に関する研究	17
	奥 田 晴 宏	
	3. 生物薬品の試験法及び各条規格の改正に関する研究	25
	川 崎 ナ ナ	
	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	35
	ーベラドンナ総アルカロイドの各条規格に関する研究ー 丸 山 卓 郎	
	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	43
	阿 曾 幸 男	
	6. 理化学試験法の改正に関する研究	51
	四 方 田 千 佳 子	
	7. 製剤および製剤試験法の改正に関する研究	63
	ータンパク質製剤の凝集体解析法ー 川 西 徹	
	8. 医薬品の名称、化学名及び構造式の改正に関する研究	69
	栗 原 正 明	
III.	研究成果の刊行に関する一覧表	73

IV. 研究成果の刊行物・別刷

厚生労働科学研究費補助金
(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)
総括研究報告書

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のための研究

研究代表者 川西 徹 国立医薬品食品衛生研究所 副所長

医薬品の製造・品質管理の高度化，および原料供給・製造・流通の国際化は著しく，我が国の公的医薬品規格基準書である日本薬局方はこのような医薬品を巡る環境の変化に対応した改正が必要である．本研究は局方改正原案の作成に中心的に係わっている専門家から研究班を構成し，適宜分野横断的な協力を取り入れながら薬局方改正関連の課題解決のための研究をおこなった．その結果，

1. 局方国際調和： 策定した方針に従い日米欧三薬局方調和検討会議（PDG）において局方国際調和を進めた結果、調和対象としている項目数に対して平成24年度末で国際調和した項目数は、一般試験法では35項目中28項目、医薬品添加物各条では62項目中43項目となった。
2. 化学合成医薬品関連： 医薬品の純度試験としてのNMR法の有用性について検討し、特別な前処理を必要とせず、残留溶媒等の揮発性の有機化学物質の混入の定量に応用可能であることを示した。
3. 生物製品関連： 市販の各種エボエチン製剤を例として検討を行い、LC/ESI/MSは遺伝子組換え糖タンパク質の糖鎖不均一性の試験法として有用であることを明らかにした。
4. 生薬関連： 局方優先収載候補品目であるベラドンナ総アルカロイドの各条規格の検討を行い、性状、TLC 法による確認試験を設定するとともに、純度試験として重金属及びヒ素の規格を設定し、さらに、HPLC 法による定量法を設定し、含量規格値案をまとめた。
5. 医薬品添加物関連： 医薬品添加物各条で国際調和対象となっている乳糖水和物について、EPが提案しているドラフト案の純度試験法（澄明性試験）の問題点を明らかにするとともに、改良法を提案した。
6. 理化学試験法関連： 純度試験の金属測定法の改正にむけて、改正試験法のモデルとなりうるUSP の元素不純物試験法を用いて本邦の市販医薬品および添加物について測定を行ったところ、良好な分析が可能であることが明らかとなった。
7. 製剤および製剤試験法関連： ヒト抗体医薬品において、凝集体が一種類であり単量体と凝集体の粒子径とその相対光散乱強度の関係が明らかになっている場合、動的相対光散乱は凝集体の相対含量の推定に有用であることを示した。
8. 医薬品名称関連： 日本薬局方名称データベース(JPDB)の利用状況の調査を行い、活発に利用され、日本内外から多数のアクセスがあることを明らかにするとともに、JPDBの今後の改良にむけた課題を考察した。

研究分担者	
奥田晴宏	国立医薬品食品衛生研究所 薬品部 部長
川崎ナナ	国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部 部長
丸山卓郎	国立医薬品食品衛生研究所 生薬部第一室 室長
阿曾幸男	国立医薬品食品衛生研究所 薬品部第二室 室長
四方田千佳子	国立医薬品食品衛生研究所 薬品部第一室 室長
栗原正明	国立医薬品食品衛生研究所 有機科学部 部長
研究協力者	
濱本博幸	独立行政法人 医薬品医療機 器総合機構 医薬品基準課長
高山一成	独立行政法人 医薬品医療機 器総合機構 医薬品基準課
徳永裕司	独立行政法人 医薬品医療機 器総合機構 医薬品基準課
福原 潔	国立医薬品食品衛生研究所 有機化学部 室長
大野彰子	国立医薬品食品衛生研究所 有機化学部 主任研究官
原園 景	国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部主任研究官
浅野年紀	大正製薬株式会社
山田修嗣	アルプス薬品工業株式会社
新見伸吾	国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部 室長
遠藤素子	国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部
保立仁美	国立医薬品食品衛生研究所 薬品部
小椋康光	昭和薬科大学薬学部
中田裕二	日本食品分析センター 千歳研究所

A. 研究目的

医薬品を巡る環境は時々刻々と変化をして

おり、医薬品の製造・品質管理の環境も変化を遂げている。製造面でみると、医薬品原料の供給先や製造場所は、国内企業の製品の場合でも国外にあるというケースは少なくない。一方医薬品の品質管理の面では、使用される分析技術の進歩は著しく、また品質管理の方法としても、最終製品の規格試験にかわり、製造工程管理あるいは試験を導入する製品が増えている。このような背景の中、我が国の医薬品の規格規準公定書である日本薬局方においても、時代に即応する改正が求められており、第16改正日本薬局方作成（日局16）の基本方針では、(1)最新の学問・技術の積極的導入による通則、製剤総則、一般試験法等の改正；(2)国際調和の推進と日本薬局方の国際化の推進が最重要課題として謳われており、この方針は日局17でも引き継がれるものと考えられる。

局方の一般試験法は、普遍性が高く評価が定まった方法が採用されている。各条収載にあたって、新しい試験法があるにも関わらず、その試験法が一般試験法に採用されていない場合、古い試験法のままに各条試験が設定されることも多い。また、新しい医薬品では、局方一般試験法に未採用の新しい分析法による品質管理が行われている場合も少なくなく、そのような場合は医薬品の各条収載審議は長時間が必要となる。そこで本研究は信頼性の高い新しい試験法の局方一般試験法への導入、さらには一般試験法の問題点の解決に第一の焦点をあてる。第二の焦点としては、時代に即応した通則、名称命名法、参考情報等の改正である。第三の焦点は、医薬品原料の供給や製造の国際化への対応としても重要な局方国際調和を阻害する要因の解析およびその解決法の策定である。

研究班は局方改正原案の作成に中心的に係わっている専門家から構成され、(1)国際調和の検討、(2)化学薬品各条ならびに試験法の検討、(3)生物薬品関連の試験法の検討、(4)生薬に適した試験法の検討、(5)医薬品添加剤に関する検討、(6)理化学試験法の検討、(7)製剤総則および製剤試験法の検討、(8)医薬品名称原則の改正、の各分野の課題について、適宜横断的な協力をを行いながら、以

上の目的を達成するための研究を実施する。

B. 研究方法

B-1：局方国際調和の促進に関する研究

国際的動向も踏まえながら、局方において国際調和すべき項目を選定し、日米欧三薬局方による検討会議（PDG：Pharmacopoeia Discussion Group）活動を通じて三薬局方国際調和を進めた。

B-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

0.03 vol % の TSP を含む CDCl_3 溶液を用いて、100mM のメタノールと 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 10mM のトルエンの両方を含む溶液を調整した。各溶液の $^1\text{H-NMR}$ を測定した。スペクトルは位相調整した後、メタノールのメチル基のシグナルおよびトルエンのメチル基のシグナルについてピーク面積と S/N 比を求めた。

B-3：生物製品の試験法及び各条規格の改正に関する研究

日本および欧州で流通しているエポエチン製剤およびそのバイオ後続品について、LC/MS を用いて糖鎖の分析を行い、グライコフォームプロフィールを比較した。

B-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

国内市場に流通するベラドンナ総アルカロイドを使用し、性状、確認試験（薄層クロマトグラフィ）、純度試験（重金属、ヒ素）、および定量法（HPLC によるヒヨスチアミン並びにスコポラミン測定）からなる各条設定を検討した。

B-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

日本医薬品添加剤協会より提供された 14 種類の乳糖水和物と別途乳糖水和物メーカーから提供された乳糖水和物について、再現性のよい純度試験結果を得るに適した溶解法を比較検討した。

B-6：理化学試験法の改正に関する研究

国内市場に流通している医薬品および添加剤 9 検体を試料として、USP<232>に定められた元素不純物試験（ICP-AES および ICP-MS）にて 4 元素（ヒ素、カドミウム、鉛、水銀）を分析、測定した。

B-7：製剤および製剤試験法の改正に関する研究

ヒト化モノクローナル抗体について、単量体、凝集体を様々な比で混合させた試料について、粒子径と相対光散乱強度を測定した。

B-8：医薬品の名称、化学名及び構造式の改正に関する研究

<http://jpdb.nihs.go.jp/jp/> に公開されている第十六改正日本薬局方名称データベース上への収載、既収載品の訂正、公開データの拡充、アクセス状況のについての調査、分析を行った。

（倫理面への配慮）

動物、あるいは特定個人のヒト試料、ヒト情報は研究に使用せず、倫理面の問題は無い。

C. 研究結果

局方改正に関係する各領域の課題について検討し、以下のように改正にむけた基礎資料、基礎データ、あるいは参考資料となる成果が得られた。

C-1：局方国際調和の促進に関する研究

日米欧三薬局方国際調和の進捗状況と課題をまとめた。平成 24 年度は、2 回の PDG 会議が開かれ、（1）医薬品添加物各条としてゼラチン（ゲル化タイプ・非ゲル化タイプ）とマンニトール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、医薬品添加物各条 62 項目中 43 項目となった；（2）6 つの医薬品添加物各条の改訂が合意した；（3）一般試験法では、製剤均一性試験法等の改訂が引き続き検討され、

一方医薬品添加物では Glucose Monohydrate/Anhydrous 等の各条改訂作業が進捗している；（４）ICH Q4B ではエンドトキシン試験法が Step4 合意署名されるとともに、合計 12 試験法が Step5 に至り、Step4 の合意署名を待つ試験は製剤均一性試験法のみとなった。

C-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

医薬品の純度試験としてのNMR法の有用性について検討を行った。100mMのメタノール中に不純物モデルとして0.01~10mMの濃度のトルエンを加えた液を調整し、標準的な400MHzNMRで¹H-NMRスペクトルを測定した。その結果、検出限界と定量限界はNMR法では積算回数を増やすことにより広げることが可能となり、256回の積算では不純物濃度が原薬に対して0.01~0.05%まで定量性があることが明らかとなった。NMR法では試料に特別な前処理を必要としない為、NMRによる不純物分析法は医薬品の類縁物質とともに残留溶媒等の揮発性の有機化学物質の定量にも有効であることが示唆された。

C-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

今後新規収載が増すと予想される遺伝子組換え糖タンパク質の糖鎖不均一性の試験法としてLC/ESI/MSの有用性を評価するため、日本及び欧州にて販売されているエポエチン先行品及び後続品のグライコフォームの分析を行った。その結果、エポエチン先行品と後続品のグライコフォームの特徴（シアル酸付加数とその分布、NeuGcの存在量、Oアセチル化の程度並びにO結合型糖鎖付加状況）を明らかにし、各エポエチン製剤は、それぞれ特有の特徴を持つ異なったグライコフォームプロファイルを示すことを確認した。LC/ESI/MSによるグライコフォーム分析は、糖鎖の僅かな違いでも識別できることからグライコフォームに対する特異性が高く、糖鎖不均一性の管理方法として有用で

あることが示された。

C-4: 生薬の試験法及び各条規格の改正に関する研究

局方優先収載候補品目であるベラドンナ総アルカロイドの局方収載原案の作成を目的として、性状、確認試験、純度試験、定量法、含量規格値について検討を行った。確認試験及び定量法については、原料であるベラドンナコンや同種のアルカロイドを含有するロートコンの試験法を参考として試験法を設定した。純度試験は、重金属については当初第2法、ヒ素については第3法による試験を検討したが、いずれも添加回収試験において回収率が低いため、第4法を適用した。これにより、局方原案作成要領が定める添加回収率70%以上を確保出来た。また、重金属試験は、試料が塩基性を有することを考慮し、中和の操作を加えた。含量規格値については、上記の定量法による各検体の測定値から、ヒヨスチアミン、スコポラミン含量を、それぞれ規定するとともに、総アルカロイドとして、両者の和についても、規格値を規定する案をまとめた。総アルカロイドの規格値については、当初、99%以上とする意見があったが、定量法に用いられる標準品が天然物由来であり、不純物の含有の可能性が否定出来ないこと、2化合物の和により算出することに起因する数値状の誤差を勘案し、99.0-102.0%とする案をまとめた。

C-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

医薬品添加物各条で国際調和対象となっている乳糖水和物について、その純度試験(1)澄明性試験における試料の溶解法の検討を行った。調和作業途上にある国際調和ドラフト案では、EPの試験法(本品1.5gを内径22mmのネスラー管にとり、沸騰水浴中で加熱した水15mLを加えて、沸騰水浴中で加熱しながら溶かす)が採用されているが、製品間あるいはロット間で試験結果にばらつきが生じた。そこで溶解の際の加温条件を一定とするため、「本品1gを20mLの三角フラスコにとり、沸騰水10mLを速やかに加え溶解する」方法により、試験結果の再現

性を確認したところ、再現性のよい結果が得られた。そこで本試験の試験法として「本品1gを20mLの三角フラスコにとり、沸騰水10mLを速やかに加え溶解する。溶解後、直ちに濁度標準液Iと比較する」を提案した。

C-6：理化学試験法の改正に関する研究

金属の試験法の改正に向けて、USPが準備している元素不純物試験法（USP<232>：金属不純物-限度値；およびUSP<233>：金属不純物-試験法）を概観するとともに、本邦で流通する医薬品および添加剤について、鉛、水銀、ヒ素、鉛の含有量測定を行った。即ち、USP<233>による医薬品および添加剤中の元素不純物の測定では、各試料とも、元素不純物として測定対象とした4元素はいずれも定量下限（0.5J）およびICHガイドライン案での暫定的 Permitted Daily Exposure (PDE) 値から得られた限度値（J）以下であった。また添加回収率は89～111%であった。これらのことから、今回試料とした3つの医薬品および添加剤は、USP<232>に定められた元素不純物試験で適切に試験が実施可能であり、いずれの物質中含量も規制値に適合と判定された。今回用いた試料については、いずれもPDEの規制に適合する可能性が高いこと、また各試験法については、良好な分析が可能であることが示された。

C-7：製剤総則ならびに製剤試験法の改正に関する研究

抗体医薬品原薬の製造工程と最終製品における凝集体の相対レベルの推定における動的光散乱の有用性を評価するために、ヒト化抗体医薬品製剤を攪拌することにより誘導した凝集体と単量体の粒子径及び相対光散乱強度を動的光散乱により測定した。単量体と凝集体の粒子径はそれぞれ5及び500nmであった。凝集体と単量体を1対6の比で混合すると凝集体の相対光散乱強度は約50%であった。これらの知見は凝集体の相対光散乱強度は単量体に比べ約7倍高いことを示している。したがって、凝集体が1種類で

あり単量体と凝集体の粒子径とその相対光散乱強度の関係が既に明らかになっている場合、動的光散乱は凝集体の相対含量の推定に有用であることが示唆された。

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

日本薬局方（JP）収載医薬品など、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、および基原の項に含まれる構造情報などの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）からなる日本薬局方名称データベース（JPDB）の構築、管理に関する検討を行った。データベースには2013年1月～3月に20,000件近くのアクセスがあり、また1日の最高アクセス数は384件（2013/3/7）であった。そのうち500件は海外からのアクセスであり、十分に利用されているものと推測される。今後構造、名称等の情報だけでなく、より多くの情報を収載する必要があるか検討するとともに、データベースの検索ができるようにする検討を行う。

D. 研究により得られた成果の今後の活用

- (1)国際調和関連：各課題について国際調和に臨む際の日局の基本方針となる
- (2)化学合成医薬品関連：今後NMR法を日局の確認試験としてばかりでなく、不純物の定量試験や限度試験にも応用を広げる上で根拠データとなる
- (3)生物薬品関連：今後収載数が増加することが見込まれる組換え糖タンパク質医薬品の糖鎖不均一性の管理において、LC/ESI/MSによる試験の有用性の根拠データとなる
- (4)生薬関連：アレルギー性鼻炎薬や感冒薬に配合されるペラドンナ総アルカロイドの局方収載により、本品の品質の一定性確保が確実となり、有効性および安全性の確保につながる

- (5)医薬品添加剤関連：日米欧局方で国際調和作業中の乳糖水和物各条が、より合理的なものになる
- (6)理化学試験法関連：日局元素分析法の改正において、USPで検討中の方法がモデルとなりうることを明らかとした
- (7)製剤および製剤試験法関連：抗体医薬品製剤の凝集体の試験法として動的光散乱を検討する根拠データとなる
- (8)医薬品名称関連：JPDBの今後の充実、改善のための基礎資料となる。

以上 本研究の成果は、局方改正原案作成に直接反映され、(1) 局方医薬品の試験に用いられる試験法の高度化；(2) 保健医療上重要な医薬品の新規各条収載作業の促進；さらに(3) 欧米の局方に先立つ試験法等の導入は、国際ハーモナイゼーションにおいて日局が主導的な役割を果たす上で有用である。

E. 健康危険情報

特になし

F. 研究発表

1.論文および総説

- 1) Sakai-Kato K, Ishikura K, Oshima Y, Tada M, Suzuki T, Ishii-Watabe A, Yamaguchi T, Nishiyama N, Kataoka K, Kawanishi T, Okuda H: Evaluation of intracellular trafficking and clearance from HeLa cells of doxorubicin-bound block copolymers, *Int J Pharm.* 423, 401– 409 (2012)
- 2) Ohno A, Kawanishi T, Okuda H, Fukuhara K: A new approach to characterization of insulin derived from different species using ¹H-NMR coupled with multivariate analysis, *Chem Pharm Bull.* 60, 320-324 (2012)
- 3) Sakai-Kato K, Nanjo K, Kawanishi T, Okuda H: Rapid and sensitive method for measuring the plasma concentration of doxorubicin and its metabolites, *Chem. Pharm. Bull.* 60, 391-396

(2012)

- 4) Shibata H, Saito H, Kawanishi T, Okuda H, Yomota C: Comparison of particle size and dispersion state among commercial cyclosporine formulations and their effects on pharmacokinetics in rats, *Chem Pharm Bull.* 60, 967-975 (2012)
- 5) Shibata H, Saito H, Yomota C, Kawanishi T, Okuda H: Alterations in the detergent-induced membrane permeability and solubilization of saturated phosphatidylcholine/ cholesterol liposomes: effects of poly(ethylene glycol)-conjugated lipid, *Chem Pharm Bull.* 60, 1105-1111 (2012)
- 6) Yamaki T, Ohdate R, Nakadai E, Yoshihashi Y, Yonemochi E, Terada K, Moriyama H, Izutsu K, Yomota C, Okuda H, Kawanishi T: Component crystallization and physical collapse during freeze-drying of L-arginine- citric acid mixtures, *Chem Pharm Bull.* 60, 1176-1181 (2012)
- 7) Shibata H, Yomota C, Kawanishi T, Okuda H: Polyethylene glycol prevents in vitro aggregation of slightly negatively-charged liposomes induced by heparin in the presence of bivalent ions, *Biol Pharm Bull.* 35, 2081-2087 (2012)
- 8) Un K, Sakai-Kato K, Oshima Y, Kawanishi T, Okuda H: Intracellular trafficking mechanism, from intracellular uptake to extracellular efflux, for phospholipid/cholesterol liposomes, *Biomaterials.* 33, 8131-8141 (2012)
- 9) Sakamoto T, Portieri A, Arnone D D, Taday P F, Kawanishi T, Hiyama Y: Coating and Density Distribution Analysis of Commercial Ciprofloxacin Hydrochloride Monohydrate Tablets by Terahertz Pulsed Spectroscopy and Imaging, *J Pharm Innov.* 7, 87-93 (2012)
- 10) Sakamoto T, Fujimaki Y, Takada Y, Aida, K, Terahara T, Kawanishi T, Hiyama Y: Non-destructive analysis of tulobuterol crystal reservoir-type transdermal tapes using near infrared spectroscopy and imaging, *J Pharm*

Biomed Anal. 74, 14-21 (2013)

- 11) Endo M, Niimi S, Determination of the relative light scattering intensity of aggregates induced by stirring of humanized monoclonal antibody product using dynamic light scattering. *Kokuritsu Iyakuhin Shokuhin Eisei Kenkyuusho Hokoku.* 2012;(130):43-45
- 12) 川西 徹:第16改正日本薬局方製剤総則における「経口投与される製剤」および「口腔内に適用する製剤」ー口腔内崩壊錠の位置づけーファームテックジャパン. *28, 20-25 (2012)*
- 13) 川西 徹:日本薬局方の今とこれから ファルマシア *48, 119-123 (2012)*
- 14) 川西 徹:医薬品の品質を巡る話題ー化学合成医薬品に関わるレギュラトリーサイエンスーレギュラトリーサイエンス誌 *2, 67-73 (2012)*
- 15) 川崎ナナ, 石井明子:抗体医薬品のバイオ後続品の将来展望. *臨床と微生物. 39 巻 5 号 459(059)-465(065) (2012)*
- 16) 川崎ナナ, 石井明子:バイオ後続品. *日本病院薬剤師誌. 48 (9), 1079-1086 (2012).*
- 17) 石井明子, 原園 景, 川崎ナナ:バイオ後続品/バイオシミラーに関する国内外の規制動向と品質評価, *ファームテックジャパン, 29(1), (2013)*
- 18) 小椋康光:ICP-AES と ICP-MS の一般試験法への新規収載. *ファームテックジャパン (2012) 28, 2791-2794*

2. 学会発表

- 1) Ohno, A., Kawanishi, T., Okuda, H., Kurihara, M., Fukuhara, K., New approach to qualify evaluation for a difference of the high-order structure of peptide/protein drugs, 244th American Chemical Society National Meeting & Exposition, (2011.8) (Philadelphia, PA, USA)
- 2) A.Harazono, N. Hashii, R. Kuribayashi, N. Kawasaki: Comparison of glycoforms of innovator and biosimilar epoetins using LC/ESI/MS of intact proteins. 26th

International Carbohydrate Symposium,
(July 22-27, 2012) Madrid, Spain

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし

厚生科学研究費補助金（医薬品・医療機器レギュラトリーサイエンス総合研究事業）
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のための研究

分担研究報告書

局方国際調和の促進に関する研究

研究分担者 川西 徹（国立医薬品食品衛生研究所）
研究協力者 濱本博幸（医薬品医療機器総合機構医薬品基準課長）
協力研究者 高山一成（医薬品医療機器総合機構）
協力研究者 徳永裕司（医薬品医療機器総合機構）

研究要旨

薬局方の国際調和及び規制当局による薬局方の国際間の受入れの推進を目的に研究を行った。すなわち、国際的な動向を踏まえつつ、局方において国際調和すべき項目を選定し、日米欧三薬局方による薬局方検討会議(PDG: Pharmacopoeial Discussion Group)活動を通じて三薬局方間の国際調和を進めるに必要な事項と方策について検討した。成果・結果は以下の通りである：

平成24年度は、2回の PDG 会議が開かれ、

- (1) PDG では、ゼラチン(ゲル化タイプ・非ゲル化タイプ)と D-マンニトールが新規に国際調和に至った。その結果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 43 項目となった。
- (2) 改定項目数は、医薬品添加物 6 であった。
- (3) 既存の国際調和文書に関する改定については、一般試験法では、製剤均一性試験法等について検討が行われている。一方、医薬品添加物の新規調和品目では、グルコース(水和物/無水)等の各条調和作業が進捗している。
- (4) ICH Q4B ではアドホックでメールベースの活動が行われ、かさ密度及びタップ密度測定法とエンドトキシン試験法が Step4 合意署名され、Step4 に至っていない試験法は製剤均一性試験のみとなった。

A. 研究目的

医薬品原料供給、医薬品生産、医薬品流通のグローバル化に対応した医薬品の基準の国際化の推進がうたわれているところから、薬局方の国際調和及び規制当局による薬局方

の国際間の受入れを推進するための研究を目的とする。

B. 研究方法

国際的動向も踏まえながら、局方において国際調和すべき項目を選定し、日米欧三薬局方による検討会議 (PDG: Pharmacopoeial Discussion Group) 活動を通じて三薬局方国際調和を進める。

C. 研究結果及び考察

1. 薬局方検討会議 (PDG) 及び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 (ICH Q4B) に関する専門家会議の開催について

PDG は日本東京と米国ロックビルにて、合計 2 回の会合をもった。一方、ICH Q4B 活動は、PDG の進捗に応じて、メールベースで活動した。

2. PDG における国際調和の合意署名：署名年月 (日局収載予定年月) について

PDG において国際調和の署名がなされた新規項目、改定項目、誤記訂正項目、署名ページの改定項目及び調和対象とされた全項目の現時点での総計項目数は以下のとおりである。

なお、新規項目、改定項目、誤記訂正項目については、署名年月及び日局収載予定年月を示した。後者は括弧内に記載している。

(1) 新規項目

- ① 一般試験法
 - ・ なし
- ② 医薬品添加物
 - ・ Gelatin, gelling type and non-belling type (ゼラチン (ゲル化タイプ・非ゲル化タイプ)): 2012.6 ゲル化タイプ (JP16 一部改正 (2013.5) 収載予定)、非ゲル化タイプは JP 不参加。
 - ・ D-Mannitol (マンニトール): 2012.6 (JP16 第二追補 (2014.3) 収

載予定)

(2) 改定項目

- ① 一般試験法
 - ・ なし
- ② 医薬品添加物
 - ・ Hydroxypropylmethylcellulose (ヒドロキシプロピルメチルセルロース) Revision 1: 2012.6 (JP16 第二追補 (2014.3) 収載予定)
(改定内容: 粘度、定量法)
 - ・ Methylcellulose (メチルセルロース) Revision 2: 2012.6 (JP16 第二追補 (2014.3) 収載予定)
(改定内容: 粘度、定量法)
 - ・ Starch, Corn (トウモロコシデンプン) Revision 3: 2012.6 (JP16 第二追補 (2014.3) 収載予定)
(改定内容: 純度試験 (塩化物、硫化物)、定量法、試薬試液)
 - ・ Ethanol (エタノール) Revision 2: 2012.11 (JP16 第二追補 (2014.3) 収載予定)
(改定内容: 純度試験 吸光度、試薬試液)
 - ・ Ethanol, Anhydrous (無水エタノール) Revision 2: 2012.11 (JP16 第二追補 (2014.3) 収載予定)
(改定内容: 純度試験 吸光度、試薬試液)
 - ・ Cellulose Acetate (酢酸セルロース) Revision 2: 2012.11
(JP 不参加)

(3) 訂正項目

- ① 一般試験法
 - ・ なし
- ② 医薬品添加物
 - ・ Cellulose Acetate Phthalate, (酢酸セルロースフタル酸エステル) Revision 1. Corr. 1: 2012.6 (JP16

第一追補(2012.9)収載済)

(訂正内容: 確認試験 IR)

- ・ Magnesium Stearate (ステアリン酸マグネシウム) Correction2: : 2012.6 (JP16 第一追補(2012.9)収載済)
(訂正内容: 純度試験 硫酸塩)
- ・ Gelatin (ゼラチン) Correction1: : 2012.11 (JP16 一部改正(2013.5)収載予定)
(訂正内容: 純度試験 過酸化物)

(4) 国際調和した総計項目数/全項目数

- ① 一般試験法: 28 項目/35 項目
- ② 医薬品添加物: 43 項目/62 項目

2. 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

2010年11月のICH福岡会議の運営委員会でPhRMAおよびFDAからQ4Bの活動終了の提案がされ、未完了の課題およびメンテナンス作業のための不定期な活動を残して、定期的なQ4B専門家会議は終了した。その後の進捗は以下の通りである。

(1) 調和済み項目のQ4B評価

- ① Uniformity of Dosage Units (製剤均一性試験法): Q4Bでstep 4合意されるために、PDGは、既にT及びW-barの定義については合意していたが、2% exemption(25 mg/25%の閾値に達しない場合でも、有効成分の濃度のRSDが2%以下であれば質量偏差試験を採用できる)についてはUSPからは削除することとなった。この方向についてはQ4Bの了解がえられており、各局への取り込みを確認するため各局方への収載を待っているところである。
- ② Bacterial Endotoxins (エンドトキシン

試験法): 各局への取り込みを確認し、2012年10月18日にStep 4合意署名を行った。日本国内では平成25年3月21日に施行した。

- ③ Bulk and Tapped Density (かさ密度及びタップ密度測定法): Step 4合意署名を2012年6月8日に行った。日本国内では2012年11月8日に施行した。

3. PDG調和文書の改定の状況

(1) 一般試験法

- ① Uniformity of Dosage Units (製剤均一性試験): EPから提案された製剤均一性試験の適用除外とされる外用の皮膚適用製剤に「別に規定するものの他、液剤」を加えることについては3局で合意は得られているが、EPからはさらに半固形製剤でOne-doseあるいはmetered doseの容器に入れたsystematicな効果を期待する経皮吸収製剤について、製剤均一試験法を適用することを明示するための(表6.01-1を補う)表を作成するという追加的な改正が提示された。これに対してUSPは、製剤均一性試験法の表1の「その他」について、より具体的な製剤名を入れることの提案を行った。これらの改正提案について検討を行うため、取りまとめをしているUSPが三局の専門家間の電話会議の開催を提案しており、調整を行っているところである。

(2) 医薬品添加物

調和作業を行っている添加物の中で、代表的なものについて進捗状況をまとめた

- ① Glucose Monohydrate/Anhydrous (グルコース水和物/非水和物): Stage 4rev提案がEPからされているが、JPの最大の懸案事項は、類縁物質の規格

値であり、日本国内のメーカーから EP が提案する規格値には対応不可との意見が届いた。ただし、規格外となる多くは血液透析剤の原料として用いられている製品であった。JP は、国際調和規格を「精製ブドウ糖」として新規収載各条として取り入れる方針案について説明したが、引き続き三局での意見交換が継続している。

- ②Silicon Dioxide/Colloidal (二酸化ケイ素/コロイド状二酸化ケイ素): 残された一番大きな課題は、強熱残分試験におけるマッフル炉の温度条件であり、USP が規定している 1000°C では日本国内の QC ラボでの実験が困難なため、850~900°C の JP 規格を再度提案する予定でいたが、EP から、この温度領域では 875°C という設定はコントロールが難しいので、50°C 刻み (850 や 900°C) で良いのではないかとのコメントがあった。USP はすでに 1000°C を設定しているため、JP から提供されたサンプルで 850°C と 1000°C と比較したところ、強熱残分に差が見いだされた。以上のデータをもとにさらに意見交換を継続している。
- ③Propylene Glycol (プロピレングリコール): EP は IPEC America から提案されていた含量下限の 99.7% を認める方向で、さらに異図的混入物である EG, DEG の規格について USP と調和することを望んでおり、試験法のバリデーションデータなどの提供を USP に要請していた。JP はこれまで異図的混入物の規格は調和文書に取り込まない方針を主張してきた。本品目については、独自の純度試験の規格を国内向けに検討しており、2011 年 12 月に意見公募を実施していた (第一追補収載は見送りとされ、第二追補に向けて継続審議中)。EP の専門家委員会は、本

品目について EP の Potential Adulteration として EG, DEG の純度試験を各条に設定することを了承し、さらに国際調和された試験の設定を目指す方針を採択し、EP から USP に対して、試験法のバリデーションデータを含めた提供が改めて要請され、USP は応じる方向で検討を進める旨が回答された。JP からは、現在、独自に EG, DEG の純度試験の設定を検討している旨を説明し、情報交換に参加する旨を申し出た。ただし JP では、異図的混入物への対応として、薬局方の規格試験だけでは不十分であることから、これらの規格試験を PDG で調和する方針が了解されていないため、今後、JP 内部での議論を進める旨を説明した。本品目は stage3 に戻して、検討を進めることとされた。

- ④Lactose Monohydrate (乳酸一水和物): USP から、非調和事項とされている溶状について、調和モノグラフに含める提案がなされているが、提案の溶状の規格試験について、日本国内の製品について実施したところ、ロットアウトとなる製品や、試験の再現性が得られないなどの問題が発生し、JP 専門委員が試験条件・操作の改良も含めて、検討を継続していることを報告した。これに対し、EP は調査、回答することとしている。
- ⑤Sodium Chloride (塩化ナトリウム) Revision3: EP から、非調和事項とされている溶状について、調和モノグラフに含める提案がなされている。JP は、提案の溶状試験では、比較液の色が濃すぎるため、少し着色のある粗悪品まで許容してしまう可能性が示唆した。日本の業界からは、比較液を立てずに無色を確認する「現行の日局の規格」の維持が希望されている。USP からは、

注射剤用途以外では、色の規格は重要ではないのではないかと意見が示された。引き続き検討を継続している。

4. 国際調和の候補課題について

(1) 保存効力試験

JP 生物試験法委員会において、保存効力試験について調和再開が提案された。本試験法は 1996 年ごろ PDG で検討されており、stage5 の提案もなされていたが、その後の検討で、JP と EP では出荷試験として使われていないこと、評価方法が大きく異なることから、ペンディングとなり、その後、立ち消えとなっていた。そこで、調和再開に関して EP、USP に意見を求めた。

EP から、位置づけが異なる試験法の調和は、現在でも困難が伴うのではないかと個人的見解があった。ただし、最終的な判断は専門家委員会決定するため、JP から正式なコンセプトペーパーが送付されれば、各局の専門家委員会での検討を実施すると結論に至った。

(2) バイオ医薬品宿主由来タンパク質の試験

USP のバイオ医薬品の担当者から、現在改訂中の試験法に加えて、EP が取り組んでいる「宿主由来タンパク質の試験法」に USP は興味を持っており、今後、USP は EP と密に連絡をとって検討を進めていきたいとの提案があった。JP では、提案の内容について専門家委員会に持ち帰り、検討すると回答した。また、糖鎖試験法についても、USP と EP の試験法が近い内容であるため、将来的な調和試験法の候補となりうるのではないかとコメントがあった。

5. 薬局方の国際調和に関する話題

(1) 調和文書の公開について

東京会議で JP から stage 6 の調和文書を

公開可能な文書として、各薬局方の web 上に掲載することを提案した。ただし、その掲載時期や公開範囲については、PDG で議論する必要があるとの見解を示した。それに対し、EP から、調和文書は 3 局関係者の内部文書であり、外部者がこの文書を理解するためには補足情報が必要であるとの指摘がなされた。そのため、調和文書の無制限の公開は、関係者の誤解や混乱を招くことになり控えるべきであるとの意見が述べられた。また、調和文書の公開よりも、EP 5.8 Pharmacopoeial Harmonisation のように、調和文とローカルテキストの違いについて十分説明することの方が大切だという意見もあった。そのため、今回の会議では Web 上での公開については、3 局の同意が得られなかった。しかしながら、3 局以外の薬局方や規制当局者から、調和文書の公開を求められた場合には、関係者限りでの利用を前提に、十分な説明を補足して、調和文書を提供することが了解された。

ロックビル会議では、EP から、EP 参考情報 5.8 の国際調和の章に掲載予定のドラフトが送付された。内容は調和文書のカバーレターとほとんど同じ内容で、原本と比べて、直筆サインや Revision ナンバーなどが無いため、少し見やすくなっている程度であった。日局としては、比較表を本体には入れることは難しいので、USP と同様に Web サイトなどを活用して、情報提供は可能である旨を回答した。この点に加えて、EP は 2010 年に改訂された新しい Working Procedure に沿って、非調和事項：ブラックダイヤモンド、ローカル規定：ホワイトダイヤモンドの各条記載の運用を開始するとの連絡を事前に送付していた。ホワイトダイヤモンドの運用開始については、各局の事情があることから、USP も具体的な施行時期を明示しなかった。議論の結果、3 薬局方において、ダイヤモンドによる調和文書との齟齬部分を明示し、調和文書の透

明性を各地域の特性に配慮しながら各薬局方で各々対応を進めることが確認された。

(2) 金属不純物の純度試験

EPの要望により、ICH Q3DのStep2達成まで、PDGでの検討を保留している。USPとしては、ICH Q3Dと平行して作業を進めることは可能ではないかとの意見が述べられたが、EPの意見を尊重し、step2の合意を待つこととされた。現在、3局ともに微量の重金属を測定する試験法(ICP-AES/MS)が収載されたが、USPの重金属測定法では代替法のバリデーション要件が記載されている点に特徴があることが述べられた。

(3) Prospective harmonization

東京会議で原薬のProspective HarmonisationをPDGの枠組みに取り入れること、JPも新しい選定品目からこのプロジェクトに参加することを提案した。さらに先行している4品目のうち、JPは「モンテルカストナトリウム」を題材として、国際規格案の受け入れのフィージビリティスタディーを実施することを説明し、USP/EPから歓迎の意が示された。

これに対してUSP/EPでは、新たな品目の選定は実施していないこと、また初回改訂作業での調和維持をパイロットフェーズとして延長するため、パイロットフェーズがいつ終了するかを含め、今後の方針は未定との説明があった。ただし、初回改訂作業のうち、モンテルカストナトリウムについては、年内に作業が開始される見込みであることが伝えられた。さらに、USP/EPは、新規有効成分の原案作成の調和をPDGの議題とするとformalな手続きが必要となり、時間を要するため、PDG枠外のinformalな情報交換により実質的な作業を迅速に進めてきたところ。ただし、USP/EPでの検討状況についてJPへの情報提供は引き続き可能とのことであっ

た。これに対して、JPはフィージビリティスタディーで生じた疑問点について、USP/EPに意見を照会したい旨を伝え、了承された。

D. 結論

平成24年度は2回のPDG会議が開かれた。PDG会議では、医薬品添加物各条2項目が新規に国際調和に至った。改定項目数は医薬品添加物6項目であった。これらは、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28項目、医薬品添加物62項目中43項目となった。

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)についてはメールベースの活動を行ったが、新たにかさ密度及びタップ密度測定法、エンドキシン試験法がstep4合意署名し、残るは製剤均一性試験法のみとなった。

そのほか、三局での歩調を合わせることに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。

以上のように、日米欧の局方の国際調和を推進するPDG活動は進捗している。しかし一方では、PDGでの国際調和が、局方全体からすれば一部にとどまっており、国際調和のペースが遅いこと、また国際調和結果をみても、部分調和にとどまっていることなど、欧米の局方ユーザー等の関係者からPDGの活動に対する批判が顕在化しつつあり、東京会議でJPは新しい調和項目候補の提案を積極的に行ったものの、合意には至らなかった。

一方、ロックビル会議ではバイオ医薬品の宿主由来タンパク質の試験法を新たな調和項

目に挙げることにポジティブな意見が三局から出された。今後各局内で最終的な意見集約が行われる予定であるが、一般試験法の新たな調和項目となる可能性が高い。この要因としては、当該試験法は、(1)製品数が必ずしも多くないバイオ医薬品の試験法であること; (2)バイオ医薬品であるため関係企業が少ないこと; (3)とはいえ今後のバイオ医薬品のほとんどの製品が関係する品質特性の試験法であること等、調和が比較的容易に思われ、かつ調和のメリットが大きいことがあげられる。

このことは、今後 PDG の場での調和対象項目を考える上で大きなヒントとなると思われる。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sakai-Kato K, Ishikura K, Oshima Y, Tada M, Suzuki T, Ishii-Watabe A, Yamaguchi T, Nishiyama N, Kataoka K, Kawanishi T, Okuda H: Evaluation of intracellular trafficking and clearance from HeLa cells of doxorubicin-bound block copolymers, *Int J Pharm.* **423**, 401–409 (2012)
- 2) Ohno A, Kawanishi T, Okuda H, Fukuhara K: A new approach to characterization of insulin derived from different species using ¹H-NMR coupled with multivariate analysis, *Chem Pharm Bull.* **60**, 320-324 (2012)
- 3) Sakai-Kato K, Nanjo K, Kawanishi T, Okuda H: Rapid and sensitive method for measuring the plasma concentration of doxorubicin and its metabolites, *Chem. Pharm. Bull.* **60**, 391-396 (2012)

- 4) Shibata H, Saito H, Kawanishi T, Okuda H, Yomota C: Comparison of particle size and dispersion state among commercial cyclosporine formulations and their effects on pharmacokinetics in rats, *Chem Pharm Bull.* **60**, 967-975 (2012)
- 5) Shibata H, Saito H, Yomota C, Kawanishi T, Okuda H: Alterations in the detergent-induced membrane permeability and solubilization of saturated phosphatidylcholine/ cholesterol liposomes: effects of poly(ethylene glycol)-conjugated lipid, *Chem Pharm Bull.* **60**, 1105-1111 (2012)
- 6) Yamaki T, Ohdate R, Nakadai E, Yoshihashi Y, Yonemochi E, Terada K, Moriyama H, Izutsu K, Yomota C, Okuda H, Kawanishi T: Component crystallization and physical collapse during freeze-drying of L-arginine- citric acid mixtures, *Chem Pharm Bull.* **60**, 1176-1181 (2012)
- 7) Shibata H, Yomota C, Kawanishi T, Okuda H: Polyethylene glycol prevents in vitro aggregation of slightly negatively-charged liposomes induced by heparin in the presence of bivalent ions, *Biol Pharm Bull.* **35**, 2081-2087 (2012)
- 8) Un K, Sakai-Kato K, Oshima Y, Kawanishi T, Okuda H: Intracellular trafficking mechanism, from intracellular uptake to extracellular efflux, for phospholipid/cholesterol liposomes, *Biomaterials.* **33**, 8131-8141 (2012)
- 9) Sakamoto T, Portieri A, Arnone D D, Taday P F, Kawanishi T, Hiyama Y:

Coating and Density Distribution
Analysis of Commercial Ciprofloxacin
Hydrochloride Monohydrate Tablets
by Terahertz Pulsed Spectroscopy and
Imaging, *J Pharm Innov.* 7, 87-93
(2012)

- 10) Sakamoto T, Fujimaki Y, Takada Y,
Aida, K, Terahara T, Kawanishi T,
Hiyama Y: Non-destructive analysis
of tulobuterol crystal reservoir-type
transdermal tapes using near infrared
spectroscopy and imaging, *J Pharm
Biomed Anal.* 74, 14-21 (2013)
- 11) 川西 徹：第16改正日本薬局方製剤総
則における「経口投与される製剤」および
「口腔内に適用する製剤」－口腔内崩壊錠
の位置づけ－ ファームテックジャパン.
28, 20-25 (2012)
- 12) 川西 徹：日本薬局方の今とこれから
ファルマシア 48, 119-123 (2012)
- 13) 川西 徹：医薬品の品質を巡る話題 －
化学合成医薬品に関わるレギュラトリ
ーサイエンス－ レギュラトリーサイ
エンス誌 2, 67-73 (2012)
- 14) 川西 徹：画期的製剤開発を支えるバイ
オイメーキング 画像ラボ 23, 47-50
(2012)

2. 学会発表

なし

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）
分担研究報告書

分担研究課題 化学医薬品の試験法及び各条の規格の改正に関する研究
－ NMR による不純物分析法の開発 －

研究分担者 国立医薬品食品衛生研究所薬品部 部長 奥田 晴宏

研究要旨 医薬品の純度試験としての NMR 法の有用性について検討を行った。原薬と不純物の代わりに 100mM のメタノールと 0.01～10mM の濃度のトルエンをそれぞれ用いて測定溶液を調整し、標準的な 400MHzNMR で ¹H-NMR スペクトルを測定した。その結果、検出限界と定量限界は NMR 法では積算回数を増やすことにより広げることが可能となり、256 回の積算では不純物濃度が原薬に対して 0.01～0.05%まで定量性があることが明らかとなった。NMR 法では試料に特別な前処理を必要としない為、NMR による不純物分析法は医薬品の類縁物質とともに残留溶媒等の揮発性の有機化学物質の定量にも有効であることが示唆された。

研究協力者

福原 潔 国立医薬品食品衛生研究所
有機化学部 室長
大野 彰子 国立医薬品食品衛生研究所
有機化学部 主任研究官

A. 研究目的

近年の分析技術の進歩は著しく、それに伴った医薬品の製造・品質管理の急速な高度化が進んできている。日本薬局方においてもこのような医薬品を巡る環境の変化に応じた改正が求められている。

クロマトグラフィーは日本薬局方の純度試験、定量法における分析手法として代表的な手法である。定量法では液体クロマトグラフィー(HPLC)およびガスクロマトグラフィー(GC)が、また、純度試験ではこれらの方法に加えて薄層クロマトグラフィー(TLC)が日本薬局方の主な分析手法として利用されている。これらの手法は分離分析試験法であり、適切なカラムや充填

剤を選択することによって原薬と不純物を特定した検出が比較的容易にできる。しかしながら、化合物の物性から分離条件を見つけ難い場合も多く、また、GC での分析は気化し易い化学物質に限定される。クロマトグラフィーの検出には、HPLC では紫外吸光光度計、GC では熱イオン化検出器、水素炎イオン化検出器等が用いられているが、最も頻度高く用いられている紫外吸光光度計では UV 吸収をもたない化合物の検出は不可能である。一方、純度試験で用いられている TLC では試料溶液と標準溶液を同一の TLC プレートで展開後、発色溶液によってスポットを発色させる。発色させることによって UV 吸収をもたない化合物でも検出可能となるが、判定が目視による比色分析であること、また、発色強度に依存する為、精度は低い。

核磁気共鳴スペクトル測定法(NMR 法)はスピ量子数が 1 以上の ¹H や ¹³C を検出する方法であり、化合物の構造解析手法の一つとして日本薬局方においては標準品の確認試験に利用