

することが、妥当であると考えられる。

E. 結論

日本薬局方の改正に関する研究の一環として、アキョウ及びベラドンナ総アルカロイドの規格基準について検討を行い、アキョウについては、主産地である中国、山東省の製造業者を訪問し、基原動物の調達システムを視察するとともに、遺伝子情報を利用した基原動物鑑別法を開発した。本方法については、定量性に関して検討の余地を残している。一方、ベラドンナ総アルカロイドについては、各条規格を検討し、性状、確認試験、純度試験、定量法、含量規格値案をまとめた。

F. 研究発表

1. 学会発表

桑田幸恵, 袴塚高志, 浅間宏志, 前博友, 山本豊, 蔡少青, 合田幸広, PCR 法による生薬アキョウの基原動物鑑別, 第 49 回全国衛生化学技術協議会年会, 2012 年 11 月, 高松

2. 論文発表

特になし

H. 知的所有権の取得状況

特になし

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

分担研究者 阿曾幸男 国立医薬品食品衛生研究所 薬品部第二室長

研究要旨 国際調和が進められている医薬品添加剤のなかで、複数の起原を有する二酸化ケイ素と炭酸カルシウムについて調和を行う上での問題点の考察を行った。また、医薬品各条の国際調和が進められている D-マンニトールの試験法のうち、調和作業がこう着状態に陥っている赤外吸収スペクトル再測定サンプルの再結晶化法と水分に関する試験(乾燥減量 vs カールフィッシャー法による水分測定)について、国内流通サンプルを用いて実験を行い、その結果に基づいて、調和に向けた方策を考察した。さらに、医薬品各条の国際調和が進められ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について検討を行い、再現性のある溶解法として、「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」ことを提案する。

A. 研究目的

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。局方間の考え方の相違から調和が膠着することや、添加剤メーカーが国内にないため調和テキストの各局各条への取り込みの際に問題が生ずる場合が生ずる場合があり、調和の障害になる。

本研究においては(1)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、(2)IRによる確認試験を行う際に、試料のスペクトルが参照スペクトルあるいは標準品のスペクトルと一致しないときの再結晶化条件および水分定量法が3局で異なるために調和が膠着している D-マンニトールについて、3局の再結晶化条件によって得られる D-マンニトールの結晶形を実験的に確認するとともに、水分定量法についても比較検討した。

さらに、(3)現在、調和テキストのリビジョンが行われている乳糖水和物の純度試験の溶状について、提案された試験法が国内で流通する乳糖水和物に適用可能かを実験的に確認し、より再現性のある方法を検討した。

B. 研究方法

(1) 起原の異なる医薬品添加物の国際調和に関する考察

日局、医薬品添加物規格(薬添基)、EP、USPの二酸化ケイ素、炭酸カルシウムの各条を比較した。添加剤メーカー等の Web ページ等を参考にし、製造法等を調査した。医薬品製剤の安定性に及ぼす医薬品添加剤中の不純物の影響について文献調査を行った。

(2) D-マンニトールの再結晶化法と水分定量法に関する検討

試料

D-マンニトールは国内に流通する α 形(PEARLITOL100SD、Lot. E050D、ROQUETTE社製)、 β 形(PEARLITOL50C、Lot. E-566C、ROQUETTE社製)および δ 型(Parteck Delta M、M659535 118、Merk社製)の D-マンニトールを用いた。

2-1) 再結晶化法の検討

EPの方法に準じた電子レンジによる加熱乾燥による再結晶化法(Method A)および真空加熱乾

燥による再結晶化法 (Method B、Method C)、JP の再結晶化法 (Method D) の具体的な操作法を記す。

Method A : D-マンニトール 25mg をガラス容器にとり、水 0.25mL を加え、加熱せずに溶かす。600 ワットの出力の電子レンジを用い 20 分間加熱する。

Method B : (Method A の変法。電子レンジを使用しない方法。) : D-マンニトール 25mg をガラス容器にとり、水 0.25mL を加え、加熱せずに溶かす。100°C で 1 時間加熱した後、乾燥した粉末が得られるまで徐々に減圧度を上げながら減圧加熱乾燥する。

Method C : D-マンニトール 25mg をガラス容器にとり、水 0.25mL を加え、加熱せずに溶かす。100°C 真空乾燥機に入れ、ただちに減圧にし、乾燥した粉末が得られるまで減圧加熱乾燥する。

Method D : D-マンニトール 1g を温湯 (60°C ~ 70°C) 3mL に溶かした後、5°C で 24 時間または結晶が析出するまで放置した後、ろ過する。得られた結晶を少量の冷水で洗った後、105°C で 4 時間乾燥する。

IR スペクトルはフーリエ変換赤外分光光度計 (FT/IR-6300A 型、日本分光) を用い、400cm⁻¹ ~ 4000cm⁻¹ の範囲において、4cm⁻¹ の分解能で測定した。

2-2) D-マンニトールの水分測定法の検討

水分の測定は 684 型カールフィッシャー水分測定装置 (電量滴定法、メトローム) および 870 型カールフィッシャー水分測定装置 (容量滴定法、メトローム) を用いて行った。容量滴定法の場合は試料 1g を 50°C のメタノール-ホルムアミド (1:1) 混液 40mL に溶かした。電量滴定法では試料 200mg を電解液 (クローマット A、クロロホルムとメタノールを含有) に加えた。

水分吸着等温線の測定は MB-300G 型ソーブションアナライザー (VTI) を用い、25°C で測定した。

(3) 乳糖水和物の純度試験溶状に関する国際調和案の検討

試料

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 (Table 1) と別途乳糖水和物メーカーから提供された乳糖水和物 (Table 2) を用いた。

溶解方法の検討

乳糖水和物の調和テキスト案の純度試験

Clarity and color of solution の記述のうち、下線を付した部分が今回追加になった部分である。「本品 1 g を熱湯 10 mL に溶かした溶液は、澄明であり、ほとんど無色である。液の澄明性は水と同じか、又はその濁りの度合は濁りの比較液 I 以下であり、その色は次の比較液より濃くない。この液につき、水を対照とし、紫外可視吸光度測定法により試験を行うとき、波長 400nm における吸光度は 0.04 以下である。」

溶解方法に関する記述が簡単すぎ、試験結果に実験室間のばらつきが生じたものと考えられるため、以下の 2 つの方法について検討した。

Method 1

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。(EP では内径 15~25mm の比色管を用いることになっており、液層約 40mm で比較する。今回用いたネスラー管の場合、水 15mL を加えると液層が約 40mm になる。)

Method 2

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。

(倫理面への配慮)

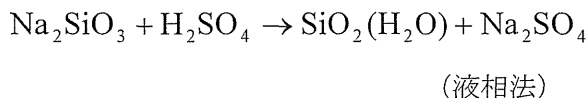
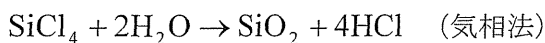
本研究は化学実験のみを行い、倫理面への配慮の必要はないと考えられる。

C. 研究結果

(1) 起原の異なる医薬品添加物の国際調和に関する考察

1-1) 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。

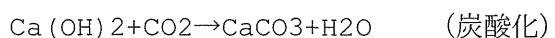
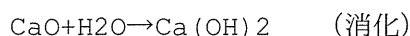
二酸化ケイ素(Silicon Dioxide)と微粒子二酸化ケイ素(Silicon Dioxide, Colloidal)の国際調和にあたって、これらの品目をいかに区別するかが問題となっている。日局の「軽質無水ケイ酸」に該当するとして液相法で合成された二酸化ケイ素が国内で流通していることから、日局の「軽質無水ケイ酸」が微粒子二酸化ケイ素(Silicon Dioxide, Colloidal)に対応し、薬添基「含水二酸化ケイ素」が二酸化ケイ素(Silicon Dioxide)に1対1に対応しているか懸念される。国内の流通品の調査が必要であると思われる。

1-2) 炭酸カルシウム

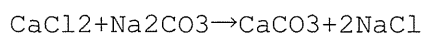
医薬品添加剤としての炭酸カルシウムは日局には「沈降炭酸カルシウム」、薬添基には「炭酸カルシウム」が収載されている。炭酸カルシウムは制酸剤や高リン血症治療剤など有効成分として使われる他に、糖衣錠の糖衣などに用いられる。炭酸カルシウムは製法により大きく二つに分類され、天然物である石灰岩を粉砕、精製した重質炭酸カルシウムと合成によって製造した沈降炭酸カルシウムに分けられる。

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。

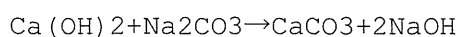
(1) 石灰乳+炭酸ガス反応法



(2) 塩化カルシウム+ソーダ灰反応法



(3) 石灰乳+ソーダ灰反応法



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ものと思われる。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。

(2) D-マンニトールの再結晶化法と水分定量法に関する検討

2-1) 再結晶化法の検討

国内に流通する α 、 β 、 δ 形のD-マンニトールについて、4つの方法で再結晶して得られたD-マンニトールの結晶形を表1に示す。JPの方法であるMethod Dによって得られる結晶は何れの結晶形のD-マンニトールを再結晶しても β 形のD-マンニトールが得られた。

EPの方法に準じて、800Wの出力の電子レンジを用い、5分間加熱乾燥(Method A)することにより結晶化したD-マンニトールのIRスペクトルは α 形のD-マンニトールのスペクトルと一致した。EPの各条では1000Wから1500Wの出力の

電子レンジを使用し、15分から30分間加熱することになっている。しかし、必ずしも1000W以上の出力の装置は必要なく、800Wの出力の装置で乾燥できた。また、500Wおよび600Wに出力を下げても、 α 型のD-マンニトールが得られた。

電子レンジを使用せずに、真空加熱乾燥する方法(Method B、Method C)は減圧するタイミングによって異なる結晶形のD-マンニトールが得られた。100℃で1時間加熱後、100℃に保ちながら約500mmHgで1時間、約250mmHgで30分間、約0.1 mmHgで30分間、減圧度を上げながら乾燥するMethod Bにおいては α 形が得られた。この場合、100℃で1時間加熱することにより、ほとんどの水分は蒸発し、結晶が析出していた。電子レンジを用いたときと同様の温度において結晶が析出すると考えられる。一方、100℃のオーブンに入れると同時に約0.1 mmHgに減圧して乾燥するMethod Cにおいては β 形の結晶が得られた。この条件では試料の温度が低い状態で水分が蒸発し結晶が析出すると考えられ、結晶が析出するときの温度が結晶形の違いに影響しているものと考えられる。

表 1. 異なる再結晶化法によって得られたD-マンニトールの結晶形

Re-crystallization method	Crystal used	Crystal obtained
Method A(EP 法-1)	α	α
Method A	β	α
Method A	δ	α
Method B	α	α
Method B	β	α
Method B	δ	α
Method C	α	β
Method C	β	β
Method C	δ	β
Method D(日局法)	α	β
Method D	β	β
Method D	δ	β

表2 D-マンニトールの乾燥減量、水分の比較

	乾燥減量(%)* (JPの方法) 1g, 105°C, 4時間	水分(%)* (EPの方法) (1g, 容量滴定, メタノール-ホルムアルデヒド 1:1, 50°C)	水分(%)* (0.2g, 電量滴定)
α形	0.062±0.006	0.082±0.006	0.081±0.021
β形	0.019±0.003	0.051±0.010	0.041±0.008
δ形	0.011±0.003	0.027±0.004	0.030±0.009

*Average ± standard deviation (n=3)

2-2) D-マンニトールの水分測定法の検討

EPでは水分の定量はカールフィッシャー法で行うことが標準的であるが、JPではカールフィッシャー法は結晶水をもつものや、乾燥により分解するものに対して適用される場合が多い。水分に対する局方間の考え方の違いがD-マンニトールの各条の調和の障害になっている。そこで、D-マンニトールの水分測定にJPの主張する乾燥減量とEPの主張するカールフィッシャー法の何れの試験法がふさわしいかを両方法で実測された値をもとに考察した。

表2にD-マンニトールの乾燥減量、カールフィッシャー法による水分測定の結果を示す。乾燥減量に比べカールフィッシャー法による水分の値が大きい傾向が見られた。しかし、乾燥減量の

値は何れの試料においても0.1%より小さく、1gの試料に対する減少量としては1mgより小さいため、正確な数値をだすことは実験的に難しい。カールフィッシャー法においては、試料の滴定量はブランクの滴定量の数倍以下であり、また、ブランクの滴定量も大きくばらついた。従って、表の数値をもとに乾燥減量とカールフィッシャー法による水分のいずれがふさわしいかを判断することは難しい。ただし、乾燥減量の大きさはα形>β形>δ形の順であり、カールフィッシャー法による水分と同じ傾向であった。水分の限度試験が目的である場合、乾燥減量とカールフィッシャーによる方法に優劣はないと考えられる。

図1にD-マンニトールの等温吸着線を示す。この図は一定の相対湿度に保存した試料がどれだけ水分を吸着するかを示すものである。D-マン

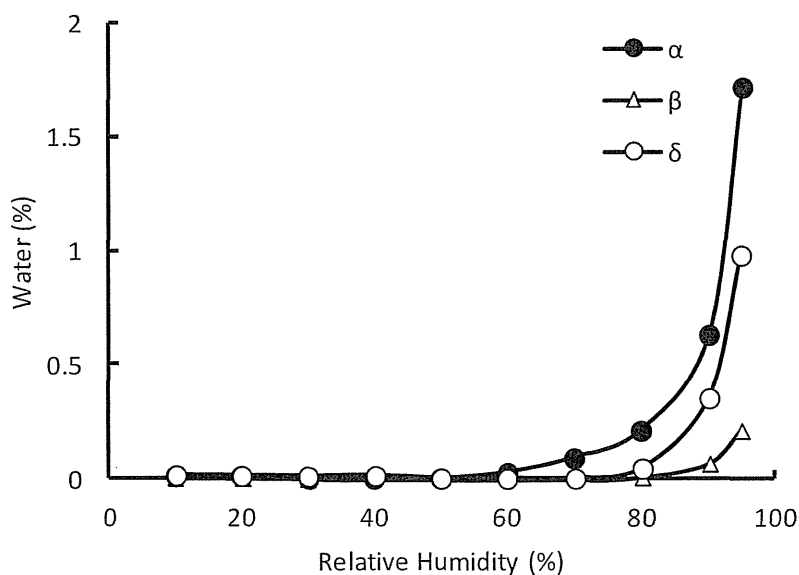


図1 D-マンニトールの水分吸着等温線(25°C)

ニトールは実験室内の相対湿度(40-60%)ではほとんど吸湿性を示さず、 α 形では70%以上の相対湿度において吸湿したが、 β 形と δ 形のD-マンニトールにおいては80%以上にしないと吸湿が見られなかった。従って、吸湿性が非常に小さいD-マンニトールに対して、水を特異的に定量するカールフィッシャー法を設定することの必要性は小さいと考えられる。

(3) 乳糖水和物の純度試験溶状に関する国際調和案の検討

3-1) 溶解方法の検討

ネスラー管を用いた溶解方法(Method 1)による結果をTable 3に示す。実験日1の加熱方法は乳糖水和物の粉末が無くなった時点まで加熱し、実験日2においては加熱時間を1分間と2分間で比較した。2分間加熱した方が適になる傾向が見られた。実験日3の試験においては、実験日2の結果を踏まえ、試料6を除き、加熱時間を2分間に統一した。3番、14番の試料のように、再現性が見られない場合があり、また、6番の試料のように3分間加熱したものは適と判定されたが、5分間加熱したものは不適と判定され、必ずしも長時間加熱することがよいとは限

Table 3 乳糖水和物の澄明性試験の結果 (Method 1)

	サンプル名		試験日 3	試験日 2		試験日 1
			加熱 2分	加熱 1分	加熱 2分	
1	Pharmatose 80M	10625303	適	適	適	適
2	Pharmatose 100M	10621233	適	n.t.	n.t.	適
3	Pharmatose 200M	10638785	不適	不適	適	適
4	SuperTab 11SD	10579314	適	n.t.	n.t.	適
5	SuperTab 30GR	10570280	適	n.t.	n.t.	適
6	Pharmatose 200M	GV220020	適、不適*	不適	不適	不適
7	Pharmatose 200M	CV250020	適	適	適	適
8	SuperTab 11SD	FV090027	適	n.t.	n.t.	適
9	ダイラクトーズ R	120708	適	n.t.	n.t.	適
10	ダイラクトーズ R	120709	適	n.t.	n.t.	適
11	ダイラクトーズ R	120710	適	n.t.	n.t.	適
12	ダイラクトーズ S	120703	不適	不適	不適	適
13	ダイラクトーズ S	120704	適	不適	適	不適
14	ダイラクトーズ S	120705	不適	不適	適	適

* 適:加熱時間 3分、不適:加熱時間 5分

n.t.:not tested

表 4 乳糖水和物の澄明性試験の結果 (Method 2)

	サンプル名		1g/10mL 20mL 三角フラスコ 沸騰水 10mL 駒込ピペット		
1	Pharmatose 80M	10625303	-	適	適
2	Pharmatose 100M	10621233	-	適	適
3	Pharmatose 200M	10638785	適	適	適
4	SuperTab 11SD	10579314	-	適	適
5	SuperTab 30GR	10570280	-	適	適
6	Pharmatose 200M	GV220020	適	適	適
7	Pharmatose 200M	CV250020	-	適	適
8	SuperTab 11SD	FV090027	-	適	適
9	ダイラクトーズ R	120708	適	適	適
10	ダイラクトーズ R	120709	適	適	適
11	ダイラクトーズ R	120710	適	適	適
12	ダイラクトーズ S	120703	適*	適*	適*
13	ダイラクトーズ S	120704	適*	適*	適*
14	ダイラクトーズ S	120705	適*	適*	適*
15	Pharmatose 200M	10531704	適	適	適
16	Pharmatose 200M	EV090017	適	適	適
17	ダイラクトーズ R	100403	適	適	適
18	ダイラクトーズ S	100404	適	適	適

適*:濁度の標準液 1 に近い(判定者によって判定が変わる可能性あり)

らないことが分かった。また、加熱時間が長くなると着色する傾向が見られることから、至適な加熱時間があるように思われた。

Method 1で用いたネスラー管の容量は50mLあり、15mLの沸騰水に比べ容量が大きく、液温が低下する可能性があるため、水を添加した後に更に加熱時間を設けたが、判定結果の再現性が良くなく、また、試料によって最適な加熱時間が異なることを示唆する結果が得られた。そこで、加熱を行わない方法として、溶解時にできるだけ液温の低下を避ける方法として、Method 2の方法を検討した。Table 4に示すように再現性の良い結果が得られ、Method 2の方法は乳糖水和物の澄明性試験における溶解方法として適切と考えられる。

3-2) EPへの質問に対する回答

乳糖水和物の澄明性試験は、EPの各条に既に記載されていることから、JPの事務局からEPの事務局に対して、ヨーロッパにおいて再現性の問題がないか、実験的に注意すべき点はないかを質問したところ、EPの専門家の報告によると専門家の実験室では問題が起きたことはないが、複数のユーザーが過剰に高い濁度について苦情を訴えていることは認識しているとのことであった。乳糖水和物の澄明性試験の結果に実験室間のばらつきがあることを認識しており、現在、実験的な検討を開始しているとの回答が得られている。

乳糖水和物の澄明性試験結果の実験室間のばらつきのない試験方法を詳細に記載する必要があると考えられる。

D. 考察

(1) 起原の異なる医薬品添加物の国際調和に関する考察

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ことが分かった。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、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。炭酸カルシウムについてはUSPの不純

物規格がJPやEPと大きく異なることが分かった。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。

(2) D-マンニトールの再結晶化法と水分定量法に関する検討

2-1) 再結晶化法の検討

JPの方法とEPの方法で再結晶したときにどの結晶形のD-マンニトールが得られるかを検討した結果、EPの方法ではJPの方法と異なる結晶形のマンニトールが生成することが確認された。再結晶化法の国際調和を進めるためには、EPの再結晶化法を採用し、JPの参照スペクトルを α 形のD-マンニトールに変更することが、1つの選択肢として考えられる。しかし、以下の点について考慮する必要があると思われる。

①電子レンジによる加熱乾燥法を取り入れるためには、国内で容易に入手可能な電子レンジが使用できるよう電子レンジの出力の記載を修正する必要がある。

②国内の実験室において電子レンジの使用は一般的ではないと思われ、電子レンジを用いる方法が受け入れ可能なのか、確認する必要がある。

③オープンにより加熱真空乾燥による結晶化法については、真空にするタイミングが重要である。また、オープンの温度のバラツキにより、得られる結晶に差を生ずる可能性もあり、温度制御の正確さも重要である。例えばオープンの温度を70℃に設定して1時間乾燥後、減圧乾燥すると β 形のD-マンニトールが生成する場合があった。従って、真空加熱乾燥する方法を取り入れるためには、現在の調和文書の記載では不十分であり、確実に α 形のD-マンニトールが得られるよう操作条件を詳しく記載する必要がある。

④電子レンジによる乾燥あるいはオープンにより加熱真空乾燥の方法を受け入れるに当たっては、異なるバッチのD-マンニトールについて、再現性の確認を行うとともに、実験室間の再現性の確認を行う必要がある。乳糖水和物の澄明性試験について、再現性のある溶解方法を提案することができた。今後、実験室間の再現性を確認する必要があると考えられる。

2-2) D-マンニトールの水分測定法の検討

水分定量法に関しては、Table 2に示すようにカールフィッシャー法と乾燥減量法の結果に大きな差

は見られなかった。水分吸着性も非常に小さいことが分かった。Table 2において乾燥減量の値が水分より大きい値になることはなかったことから、今回検討した製品には水以外の揮発性不純物が含まれないことが示唆される。製造メーカー等への聞き取り等によって、水以外の揮発性不純物が混在する可能性がなければ、水の特異的に検出可能なカールフィッシャー法によらず、乾燥減量によって水分測定を行っても良いものと考えられる。

(3)乳糖水和物の純度試験溶状に関する国際調和案の検討

乳糖水和物の澄明性試験について、再現性のある溶解方法を提案することができた。今後、実験室間の再現性を確認する必要があると考えられる。

乳糖水和物は牛乳から製造されるため、牛乳中のたんぱく質や塩類が不純物として含まれる可能性がある。乳糖水和物の純度試験の澄明性試験やタンパク質光吸収物質試験によって、これらの不純物を規制しているものと考えられる。澄明性試験において、濁りの原因物質は牛乳中のたんぱく質の凝集体や不溶性のカゼインと考えられるが、実態は不明である。今後、濁りの原因物質を明らかにし、それにふさわしい試験方法を考える必要があると思われる。

乳糖水和物中には牛乳由来のたんぱく質が混在している可能性がある。経口投与製剤の賦形剤として用いられる場合には、牛乳タンパク質にアレルギー反応を起こす患者に対しても大きな問題を起こさない量であると考えられるが、吸入剤の賦形剤として使用する場合には、タンパク質性の不純物をより厳格に規制する必要があると考えられ、そのような考えに従って、現在、吸入剤用の乳糖の各条について調和作業が進められていることを申し添える。

E. 結論

日局、医薬品添加物規格(薬添基)、EP、USPの各条を比較することにより、複数の起原を有する二酸化ケイ素と炭酸カルシウムの調和を行う上での問題点を明らかにすることができた。

D-マンニトール各条の調和の障害になっているIRによる確認試験を行う際の再結晶化条件および水分定量法について検討し、3局の再結晶化条件によって得られるD-マンニトールの結晶形を明らかにできた。水分定量法についてもカールフィッシャー法と乾燥減量法の結果に大きな差がないことを明らかにした。乳糖水和物の澄明性試験における溶解方法として、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ことにより、再現性のある試験結果を得ることができた。これらの知見をもとに、D-マンニトールや乳糖水和物各条の調和に向けた提言を行った。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

阿曾幸男、宮崎玉樹、奥田晴宏：D-マンニトールの結晶多形に及ぼす結晶化温度の影響
日本薬剤学会 第27年会(2012.5)

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
3. その他
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）
分担研究総合報告書

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
理化学試験法の改正に関する研究
研究分担者 四方田千佳子 国立医薬品食品衛生研究所 薬品部

研究要旨

色の機械的測定 日本薬局方では、医薬品各条における溶状や硫酸呈色物における色の判定では、色の比較液を用いる目視によっている。色の比較液は、JP と USP とは全く同じ比較液を採用しているが、EP ではより多くの種類の色の比較液を設定しており、医薬品各条における規格の設定時に、各局間の差が困難な状況を生んでいる。色の判定に関しては、PDG の調和の対象とされ、CIE（国際照明委員会）の方法による色差計を採用する方向で検討が進められている。そこで、色の機器分析に関する検討を行った。

誘導結合プラズマ発光分光分析法及び誘導結合プラズマ質量分析法の設定 第 16 改正日本薬局方では、元素分析法として、誘導結合プラズマ発光分光分析法（ICP-AES）が参考情報に記載されている。しかし、USP や EP では既に元素分析法として誘導結合プラズマ質量分析法（ICP-MS）が記載されており、他方では ICH では金属不純物の規制の国際調和が進行している。このような背景から、一般試験法として、誘導結合プラズマ発光分光分析法及び誘導結合プラズマ質量分析法の記載を検討した。

個別金属測定法に関する検討 ICP-MS は、その高感度性や操作の簡便性から、今後、医薬品各条の確認試験や純度試験に多用されることが期待され、国際調和が求められる分析法であると考えられる。そこで本研究では、USP から出された元素不純物試験法を精査し、それに従って医薬品および添加剤をモデル試料として、鉛、水銀、ヒ素、鉛の添加回収試験及び含有量評価を試みた。

研究協力者

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

A-1 色の機械的測定

現在、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 で使用され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の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について検討した。

A-2 誘導結合プラズマ発光分光分析法（ICP-AES）及び誘導結合プラズマ質量分析法（ICP-MS）の設定の検討

誘導結合プラズマ(ICP: Inductively Coupled Plasma)を励起源又はイオン源として利用する元素分析法である。

ICP は、高周波誘導結合法により得られるアルゴンプラズマの高温の熱エネルギーを有する励起源である。このプラズマ中に試料溶液を噴霧導入すると、試料溶液中に含有される原子が励起され、このとき生じる原子発光スペクトルの波長及び強度を測定して、元素の同定や定量分析を行う方法を ICP 発光分光分析法という。ICP は良い励起源であると同時に良いイオン化源でもあることから、検出器として質量分析計を用い、ICP により

イオン化された元素を m/z 値ごとに分離してイオンのピーク強度を測定することにより、定性分析及び定量分析を行う方法を ICP 質量分析法という。

第 16 改正では無機元素の分析として原子吸光光度法に加え、ICP-AES を参考情報として加えた。しかし、ICP-MS は ICP-AES に比べ、さらに高感度であること、同位体希釈法といった試料中のマトリクスによる妨害を回避した測定が可能であることなどから、ICP-AES とともに USP 及び EP では既に記載されている。そこで、局方の国際整合の観点から、ICP-MS を加えて、ICP-AES とともに一般試験法化することとし、設定を検討した。

A-3 個別金属測定法に関する検討

USP では、医薬品製剤に含まれる元素の不純物を規定する一般試験法が、2012 年の USP36—NF31 Second Supplement において<233> Elemental Impurities-Procedures が記載された。すなわち USP<233>では、元素の規制に関する USP<232>を達成するために必要な試験法が記載されており、分析法としては ICP-AES と ICP-MS が主に記載され、機器のシステム適合性試験に用いる試料の前処理手順やメソッドバリデーションが記載されている。ただし、その他の試験法も適切にバリデートされていれば使用可能としている。本研究では、将来的な元素不純物試験法の国際調和に向けて、USP<233>を概観し、いくつかの医薬品および添加剤について、これら試験法を適用し、試験法の妥当性と金属含有量の実態を検討した。

B. 研究方法

B-1 色の機械的測定

色の比較液は、日局色の比較液 (USP の色の比較液と同じ) と EP の 2.2.2 Degree of coloration of Liquid 記載の比較液を、関東化学 (株) 製色の塩化コバルト(II)の色の比較原液 0891-23、塩化鉄(III)の色の比較原液 20317-23、硫酸銅(II)の色の比較原液 08192-23 を用いて、混合調製した。JP 色の比較液は、原液を蒸留水で希釈調製した。EP 比較原液及び、EP 比較液は、JP 色の比較原液を用いて標準液を作成し、塩酸溶液(10g/L)で希釈した。さらに、各日局の比較液を水で希釈し、希釈による色のパラメーターの変化についても検討した。積分球方式の分光光度 (spectrocolorimeter) 及び通常のアナライ

分光光度計 (spectrophotometer) を用いて色のパラメーター L^* 、 a^* 、 b^* を測定した。積分球方式の分光光度計として、日立製分光光度計 C2000 (JIS Z8722 の 2 度視野 C 光源使用) を用い、精製水の透過光を基準として測定した。通常のアナライの分光光度計として、島津製作所製分光光度計 UV-2450 及び UVPC 用カラー測定ソフトウェアにより測定した。いずれの装置の場合も、光路長 10mm のセルを使用して測定した。

B-2 誘導結合プラズマ発光分光分析法 (ICP-AES) 及び誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) の設定の検討

分析結果に大きな影響を及ぼすと想定される ICP-MS に関する以下の項目について、JP16 局第一追補収載案 (以下、JP)、USP、EP 及び JIS の間で比較した。以下の 1)~5) は装置構成要件を、6)~11) については装置の最適化や分析条件に関する項目を挙げた。

<比較検討項目>

1. ICP-AES との併記について
2. 試料導入部構成
3. hyphenation
4. 質量分離部構成
5. コリジョン・リアクションセルの収載
6. 2 価イオン生成比
7. 酸化物イオン生成比
8. 分析上必要とする感度
9. 分析上必要とする直線性
10. 分析上必要とする再現性
11. 分析に用いるべき水

B-3 個別金属測定法に関する検討

(1) まず、USP<233>元素不純物測定法を以下の通り、和訳し、精査した。

USP<232> 元素不純物の分析法

はじめに

本項は、USP<232>および USP<233>で定められた元素不純物の限度値を得るための分析法について記述している。2 種の手法及び基準について解説する。また 2 種類の分析法とそれらに代わる代替法を用いる場合の基準について記述している。ここで言う分析信頼性が確保された代替分析法とは、本項で記述している方法 1 および 2 と分析目的において同等と考えられているのである。標準物質を用いたシステムの標準化と適合性の評価は、分析と同日に行うべきである。各試験の要求項目は通則及び医薬品各条を参照のこと

と。

スペシエーション

酸化状態、化学形態(配位状態)あるいはそれらの組み合わせに基づく元素の定量をスペシエーションとよぶ。スペシエーションを実施するために必要な分析法については、本項には含まれないが、分析例についてはUSP-医薬品集(USP-NF)および関連文献で参照可能である。

用語の定義

Strong acid: 超純度の濃硝酸、濃硫酸、濃塩酸、濃フッ化水素酸または王水をいう。

Matched matrix: 試料溶液と同一の溶媒組成を有する溶液。水溶液である場合、matched matrix とは、使用する酸の種類と濃度が同一であり、水銀安定剤はいずれの溶液にも含まれる。

Target elements: 製品に存在が想定される測定対象となる元素。Target elements には鉛、水銀、ヒ素およびカドミウムが含まれ、原料に混入が想定されるUPS<232>の元素不純物に記載がある前述4元素以外の元素である。また Target elements には、加工や貯蔵の過程において混入しうる他の元素や分析に干渉をもたらす元素も含まれるべきである。(本項や USP<232>に記載された要求項に関するコンプライアンスから、リストからの特定の元素を除外しても、規制が免除されることはない。)

Target limit or target concentration: 元素不純物の上限値で示されている。上限値の超過は、被験物質が限度値を上回ったことを示している。コンプライアンスの決定は他項に記載されている。(Target limit は、Modified Daily Dose PDEs を USP<232>中の付帯事項の最大1日投与量で除するか、Daily Serving PDE を USP<2232>に記載されている the maximum daily serving size で除すると、概算できる。)

J: 分析機器の分析可能範囲内で適切に希釈された Target limit における測定元素濃度(w/w)

Appropriate reference materials: 本項において appropriate reference materials と記述されている場合、NIST などから供給される認証標準物質(CRM)または CRM に対して traceable な標準物質が使用されるべきである。

局方の方法 1 および 2

方法 1 は誘導結合プラズマ発光分光分析法(ICP-AES 又は ICP-OES)により測定する。方法 2 は誘導結合プラズマ質量分析法(ICP-MS)により測定する手法である。

(1) 検証

分析操作の前に分析担当者は、分析方法が使用する機器及び試料に以下の点において適当で

あるか確認する必要がある。

(2) 試料調製

試料調製方法には無希釈法、直接溶解法(水溶性溶媒)、直接溶解法(有機溶媒)、間接溶解法がある。被験物質の性質および分析担当者の裁量により適切な試料調製法を選択する。

医薬品各条に該当する調製法が無い場合、分析担当者は以下に示す適切な手法を選択する事が可能である。選択した溶媒において測定対象元素の溶解度に限界がある場合、試料溶液とブランク溶液に対して測定元素でスパイクを行う。多元素含有の標準溶液を用いることができる。(すべての液体試料は秤量の必要がある。)

無希釈法: 溶液の試料あるいは溶媒和しない試料の分析の際の代替的な手法として用いる。

直接溶解法(水溶性溶媒): 水溶液の試料に用いる。

直接溶解法(有機溶媒): 有機溶媒に溶解した試料に用いる。

間接溶解法: 試料が水および有機溶媒いずれにも溶解しない場合に用いる。下記の方法と類似した、閉鎖容器内での分解方法を用いる。本方法で、医薬品各条で定められた限界値においても各元素の定量分析が可能となるような十分な試料量を得るべきである。

閉鎖容器内での分解方法: 本調製法は閉鎖容器内において強酸を使用した試料分解である。閉鎖容器内で行う事で揮発性物質の損失を最小限に抑えることができる。サンプルマトリックスにより、使用する強酸は異なる。いずれの強酸も使用可能であるが、それぞれ吸入の危険性は生じる。そのため、いかなる場合も適切な安全策を講じる必要がある。(必要であれば分解容器に適するよう質量及び体積を調整する。)

以下の一例は幅広く応用できる手法である。試料 0.5 g を脱水及び前分解し、強酸 5 mL を加える。30 分間密栓せずにドラフトチャンバー内で放置する。さらに 10 mL 以上の強酸を加え閉鎖容器内で完全に分解する。必要であれば 5 mL 以上の強酸を繰り返し追加する。(安全確保のため、本方法を用いる場合は製造業者の推奨する手法を遵守する。)

試薬

試料及びスタンダード溶液の調製に用いる全ての試薬は USP<730>プラズマ分光分析に規定があるように、元素不純物が混入していないものを使用する。

(3) 手法 1: ICP-AES

スタンダード溶液 1: マトリックスが一致した溶液中に

2J の測定元素を含む

スタンダード溶液2:マトリクスが一致した溶液中に
0.5J の測定元素を含む

サンプルストック溶液:上記の通り、調製する。必要に応じて、冷却可。水銀測定の場合、適当な安定化剤を加える。

試料溶液:適当な溶媒を用いてサンプルストック溶液中の各元素の終濃度が NMT2J となるよう調整する。

ブランク:マトリクスが一致した溶液

元素分析システム(730 項分光分析法を参照のこと)

モード:誘導結合プラズマ(ICP)

検出器:光学検出システム

洗浄液:希酸

標準化:スタンダード溶液1、スタンダード溶液2およびブランク

システム適合性

試料:スタンダード溶液1

安定条件:

ドリフト:試料溶液の分析前後でスタンダード溶液1を測定し比較する。

安定性基準:各元素につき NMT 20 %以内
(試料中にミネラルが多量に存在する場合、持ち越し汚染の最小化のため、試料導入の前に 60 秒間よく洗浄する。)

分析:個々の分析機器に推奨されるプログラム及び波長で行う。元の試料の容積を考慮し、結果を算出、報告書を作成する。

(4)手法 2:ICP-MS

スタンダード溶液1:マトリクスが一致した溶液中に 2J の測定元素を含む

スタンダード溶液2:マトリクスが一致した溶液中に 0.5J の測定元素を含む

サンプルストック溶液:上記の通り、調製する。必要に応じて、冷却可。水銀測定の場合、適当な安定化剤を加える。

試料溶液:適当な溶媒を用いてサンプルストック溶液中の各元素の終濃度が NMT2J となるよう調整する。

ブランク:マトリクスが一致した溶液

元素分析システム(730 項分光分析法を参照のこと)

モード:誘導結合プラズマ(ICP) (冷却機能を備えたスプレーチャンバーが推奨される)

検出器:質量分析計

洗浄液:希酸

標準化:スタンダード溶液1、スタンダード溶液2およびブランク

システム適合性

試料:スタンダード溶液1

安定条件:

ドリフト:試料溶液の分析前後でスタンダード溶液1を測定し比較する。

安定性基準:各元素につき NMT 20 %以内
(試料中にミネラルが多量に存在する場合、持ち越し汚染の最小化のため、試料導入の前に 60 秒間よく洗浄する。)

分析:個々の分析機器に推奨されるプログラム及び質量電荷比で行う。元の試料の容積を考慮し、結果を算出、報告書を作成する。(例えばアルゴンに起因するヒ素の干渉などマトリクスによる干渉を回避した適切な測定を行う。)

代替え試験法のバリデーション

特異的な簡易的手法が適応できない場合、代替的手法を用いてもよい。(通則 6.30 参照)代替的手法は信頼できる分析法であり、かつ局方の手法と同等の性能を有さなければならない。バリデーションの方法は一般参考情報<1225>局方分析法のバリデーションに記載してある。測定の目的に合致しているかを確認するためのバリデーションの必要性の程度、すなわち代替法を用いる適切性は、限度試験か定量試験かに依存する。いずれの試験法による元素不純物試験に関するバリデーションの要求項は、以下に記載してある。一般参考情報<1225>との記載事項との相違点に関しては、本項における指標および許容基準が優先される。

限度試験のバリデーション

以下のセクションでは、限度試験の許容範囲に関わるバリデーションのパラメータについて定義する。これらの必要項に合致することは、システム適合性を満たした手法で標準物質を測定することにより、実験的に実証される必要がある。

分析条件の適切性は、許容限界濃度に近い既知濃度の測定対象元素の添加した試料の分析により求める。被検物質は、いかなる前処理が施される前に添加すべきである。

(1)検出限界:

スタンダード溶液:Target concentration における測定対象元素を含む標準物質を調製したもののスパイクされた試料溶液1:被験物質の試料に Target concentration における測定対象元素の標準物質をスパイクしたもの、少なくとも3つ以上 スパイクされた試料溶液2:被験物質の試料に Target concentration の 80%における測定対象元素の標準物質をスパイクしたもの、少なくとも 3 つ以上

許容条件:それぞれのスパイクされた試験溶液1は、スタンダード溶液と同等もしくはそれ以上の信号強度や値を示す。スパイクされた試験溶液2は、スタンダード溶液と以下の信号強度や値を示さなければならない。(それぞれの試料から得るシグナルはブランクより得た結果と異なるものでなければならない。)

(2)機器分析の精度(再現性):

(機器以外に由来する精度は、上記の検出限界の要求条項に適合する事で実証できる。)

試料溶液:6つの測定対象元素の標準物質を明示された濃度でスパイクしたもの

許容条件:各元素につきRSD20%以内。

(3)特異性

ここで用いる方法は、明確に他の元素やマトリクスが存在が想定される条件下において、測定対象元素を測定し得る方法でなければならない。

定量試験のバリデーション

以下のセクションでは、定量試験の許容範囲に関わるバリデーションのパラメータについて定義する。これらの必要項に合致することは、システム適合性を満たした手法で標準物質を測定することにより、実験的に実証される必要がある。

(1)正確さ:

スタンダード溶液:測定対象元素を含む標準物質を用いて、それぞれの限度値の50%から150%の濃度範囲で調製したもの

試料:被験物質の試料に測定対象元素を含む標準物質を50%から150%の濃度範囲で、いかなる前処理の前にスパイクしたもの

許容条件:それぞれの濃度における3回の繰り返し測定の平均値が、スパイクした元素の回収率として70%-150%の範囲であること。

(2)精度:

再現性:

試料溶液:6つの測定対象元素の標準物質を明示された濃度でスパイクしたもの

許容条件:各元素につきRSD20%以内。

頑健性:

以下のいずれか条件で、再現性試験を行う。

1. 違う日において分析を行う
2. 異なる分析機器を使用する
3. 異なる分析担当者が測定する

許容条件:各元素につきRSD25%以内。

(3)特異性:

ここで用いる方法は、明確に他の元素やマトリクスの存在が想定される条件下において、測定対象元素を測定し得る方法でなければならない。

定量、範囲および直線性の限界

正確性の必要項目を満たすことで実証される。

(2) USP<233>による医薬品および添加剤中の元素不純物の測定

以下の3つの試料各3検体につき、USP<233>に従い、As、Cd、Hg、PbをICP-MSにより測定した。なお、一日許容摂取量値(PDE値)は、ICHで作成中の金属不純物のガイドラインのプレステップ2文書を参考にした。分析条件の詳細は以下の通りである。

試料 A:日本薬局方バレイシヨデンプン(試料番号1~3)

PDE:Oral値を用いた。

仮定摂取量:10gと想定した。

制限値:PDE/仮定摂取量から算出した。

試験設計

検量線:検量線濃度はUSP<233>に従い、2J、0.5J、0Jを用いた。

測定法:試料0.5gを採取し、マイクロ波分解装置で試料を分解後、ICP-MS法により測定した。

システム適合性試験:USP<233>に従い、試験溶液の測定前後に2Jを測定し、その変動が20%以下であることを確認することとした。

添加回収試験:任意の1検体について、試料採取時に限度値相当濃度を添加し、調製した試料溶液について測定した。

試料 B:テプレノン細粒(試料番号4~6)

PDE:Oral値を用いた。

仮定摂取量:1.5gと想定した。

制限値:PDE/仮定摂取量から算出した。

試験設計

検量線:検量線濃度はUSP<233>に従い、2J、0.5J、0Jを用いた。

測定法:試料0.1gを採取し、マイクロ波分解装置で試料を分解後、ICP-MS法により測定した。

システム適合性試験:USP<233>に従い、試験溶液の測定前後に2Jを測定し、その変動が20%以下であることを確認することとした。

添加回収試験:任意の1検体について、試料採取時に限度値相当濃度添加し、調製した試料溶液について測定した。

試料 C:エダラボン注射剤(試料番号7~9)

PDE:Parenteral値を用いた。

仮定摂取量:10gと想定した。

制限値:PDE/仮定摂取量から算出した。

試験設計

検量線: 検量線濃度は USP<233>に従い、2J、0.5J、0Jを用いた。

測定法: 試料 0.5g を採取し、マイクロ波分解装置で試料を分解後、ICP-MS 法により測定した。

システム適合性試験: USP<233>に従い、試験溶液の測定前後に 2J を測定し、その変動が 20%以下であることを確認することとした。

添加回収試験: 任意の 1 検体について、試料採取時に限度値相当濃度添加し、調製した試料溶液について測定した。

C. 研究結果及び考察

C-1 色の機械的測定

(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。

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。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。

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)、フロモキシセフナトリウム、フロモクリプチンメシル酸塩 (BY4)、メロペネム水和物、ラタモキシセフナトリウムの 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。

(2) 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) 及び通常的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。

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。

図 2 には、通常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。

C-2 誘導結合プラズマ発光分光分析法 (ICP-AES) 及び誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) の設定の検討

USP、EP、JISK0133 及び JP のそれぞれの試験法を比較し Table 1 にまとめた。

ICP-MS はイオン化源として、ICP-AES と同様に誘導結合プラズマを用いる点で、装置の試料導入部からプラズマに至る部分までほぼ同様の装置構成となっている。そのため、ICP-MS と ICP-AES を併記している試験法もある。

USP においては、Plasma spectrochemistry という項目を立てており、ICP-MS は ICP-AES と併記されている。特に試料調製、試料導入、標準液調製及びプラズマ生成の原理については、ICP-AES 及び ICP-MS に共通する項目として記載されている。また EP については、別項目としてあるものの ICP の基本原理は ICP-AES を参照するように ICP-MS の項目に記載がある。一方、JIS では高周波プラズマ質量分析通則という項目立てになっており、分光光度法を測定原理とする ICP-AES とは分離されている。しかし、ICP-MS ではイオン源となるプラズマにアルゴンプラズマを用いるが、窒素をプラズマ源とするマイクロ波誘導プラズマ質量分析装置 (MIP-MS) についても記載がある。

JP では、既に参考情報として ICP-AES が収載されていたことから、ICP-AES の記述に ICP-MS に必要な内容を付記することにより、両法の比較や移行が容易になるように ICP-AES と ICP-MS を同一項目内に記載した。また JIS に記載のある MIP については、現状では装置そのものが余り普及していないことに鑑み、記載はしなかった。

試料導入部構成

USP では代表的な試料導入方法であるペリスタルティックポンプや負圧吸引による導入方法について記載がある。ネブライザーの種類についても、同軸型やクロスフロー型が取上げられている。さらに特殊な導入方法とも言える超音波ネブライザーや高効率直接

導入型ネブライザー (DIHEN) についての記載も認められる。EP については、ペリスタルティックポンプを用いた方法が記載されているに留まっている。JIS については、USP で取上げられているよりもさらに詳細な方法が記述されている。水素化物発生装置や電気加熱による導入なども取上げられている。

JP においては、試料導入方法には多彩な方法が存在すること、測定対象とする元素によって適切な導入方法が異なることなどから、特定の試料導入方法を取上げることなく、多様な手法が利用できるような記載とした。

hyphenation

hyphenation とは、ICP-MS の試料導入部の前に、適切な試料の分離装置を結合させ、試料を化学形態、例えば分子量、電荷あるいは酸化還元状態などにに基づき分離した後、ICP-MS により元素特異的に検出するいわゆる speciation のことである。分離装置と ICP-MS という独立した2つの機器を結合させるという意味で hyphenation という語が用いられている。

USP では、ICP-MS に結合可能な分離手段として、ガスクロマトグラフィー (GC)、液体クロマトグラフィー (LC) 及びレーザーアブレーション (LA) を挙げている。EP については、hyphenation の記載は無い。JIS においては、LC、LA の他にキャピラリー電気泳動 (CE) を挙げている。

JP においては、hyphenation あるいは speciation に関しては、手法として必ずしも確立したものがある訳ではないということ を考慮し、記載はしていない。しかし、ヒ素をはじめとする類金属元素の毒性は、化学形態に著しく依存していることが知られているため、今後 JP においても speciation に関して記述が必要になるかもしれない。

質量分離部構成

USP においては、最も汎用されている四重極型に加え、飛行時間型及び高分解能の磁場二重収束型の記載がある。EP においては、四重極型及び磁場二重収束型の記載がある。JIS においては、四重極型、飛行時間型、磁場二重収束型に加えて、三次元四重極型 (イオントラップ型) の記載がみられる。

JP においては、四重極型以外の ICP-MS は極めて特殊でまれな使用に限定されること、

新たに開発される ICP-MS はほぼ四重極型に限られることから、四重極型のみ記載とした。

コリジョン・リアクションセルの収載

四重極型の ICP-MS の最大の短所は、分子イオンや同重体イオンの干渉を受けることである。特に鉄、ヒ素、セレン、などの金属の測定には、プラズマ源であるアルゴンに起因する大きな干渉が生じる。この干渉を回避するため、現行の ICP-MS にはコリジョン・リアクションセル (CRC) といわれる干渉回避装置が搭載されている。

USP 及び JIS では CRC の記載があるが、EP では記載が無い。JP では汎用型の四重極型 ICP-MS を使用することを想定しているため、CRC の記載を加えた。

2 価イオン生成比

2 価イオン生成比は、次項の酸化物イオン生成比とともに、測定対象イオンの感度低下を評価する指標である。2 価イオン生成比は、Ce などを含む溶液を測定した際に、測定対象イオンである m/z 140 に検出される Ce^+ に対して、 m/z 70 に検出される Ce^{2+} のカウント比で表わされる。すなわち、本来 Ce^+ として検出されるべきイオンがプラズマ内で Ce^{2+} となる比率の限界を規定する指標である。

USP では特に数値を規定していないが、EP では試験用液として Ce あるいは Ba 溶液を用いた時に 3% 以下、JIS では Ce 溶液で 5% 以下、Ba 溶液で 10% 以下と規定している。JP では、確認試験や純度試験を行うに必要な値として、Ce 溶液を用いた時に 0.05 以下と規定した。

酸化物イオン生成比

前項同様に測定対象イオンの感度低下を防ぐ指標となる。Ce 溶液を用いた時に m/z 140 の Ce^+ に対して、 m/z 156 で検出される $^{140}Ce^{16}O^+$ の生成比で表わす。

USP では規定はないが、EP では Ce あるいは Ba 溶液を用いた場合、2% 以下、JIS では Ce 溶液で 3% 以下、Ba 溶液で 0.5% 以下と規定している。JP では、確認試験や純度試験を行うに必要な値として、Ce 溶液を用いた時に 0.03 以下と規定した。

分析上必要とする感度

感度は、規定濃度の標準溶液を導入した時に得られるカウント数のことであるが、測定

条件によりイオンの積算時間が異なることを考慮し、JIS や JP では、1 秒あたりのカウント数で規定している。JIS では $1 \mu\text{g/L}$ の溶液を測定した際に、四重極型の ICP-MS では $5 \times 10^3 \sim 1 \times 10^4$ cps (counts per second)、二重収束型の ICP-MS では $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ cps と規定している。JP では、測定対象となる元素毎にイオン化効率など感度に与える影響が異なることから、 $1 \mu\text{g/L}$ の溶液を測定した際に、数万 cps と規定した。USP では規定はなく、EP では to obtain the highest possible number of count と規定されている。

分析上必要とする直線性

各試験法では、標準溶液を用いて検量線を作成した時の直線性を相関係数で規定している。USP では 0.99 以上、EP ではブランクを含め 5 点の標準溶液で作成した際に 0.99 以上と規定している。JIS では規定はない。

JP では、定量分析を実施する際には、0.99 以上であることを規定している。

分析上必要とする再現性

USP においては、適当な間隔を置いて測定した再定量用標準液の測定値が、単一の元素の分析であり、かつ標準液の濃度が 1 ng/mL 以上である場合は $\pm 10\%$ 未満、複数の元素の同時分析または標準液の濃度が 1 ng/mL 未満の場合は $\pm 20\%$ 未満と規定されている。EP では定量分析の場合は 3% 以下、純度分析の場合は 5% 以下と規定している。JIS には相当する規定が通則の中には示されていない。

JP では、最低濃度の検量線用標準液を 6 回測定して、相対標準偏差が、定量分析の場合は 3% 以下、純度分析の場合は 5% 以下と規定した。

分析に用いるべき水

USP では、 $18\text{M}\Omega$ 以上であり、この水に含まれる不純物が、測定対象元素に干渉しないことを確認しておくことと規定されている。EP では ICP-MS の項に水に関する記載は無い。JIS では、JIS K0557 に規定する A3 または A4 であり、この水に含まれる不純物が、測定対象元素に干渉しないことを確認しておくことと規定されている。

JP では、水は、ICP 分析用水を用いるとし、なお、その水に含まれる不純物が分析対象元素に干渉しないことを確認しておく必要がある。ここで、ICP 分析用水とは、電解質及

びコロイド状の無機物並びに有機物を含まず、その導電率が $1 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ (25°C) 以下の水とすると記載した。

C-3 個別金属測定法に関する検討

USP 各試験法を精査し、将来的に国際整合の試験法として大きな問題が無いと確認された。

C-2. 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元素の実測値を表 4 に示した。これらは、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PDE値から得られた限度値(J)以下であった(表 5)。また添加回収率は89~111%であった(表 6)。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、いずれの物質中含有量のも規制値に適合するものと判定された。

D. 結論

D-1 色の機械的測定

日局 16 で溶状に色の比較液を用いているのは39品目であり、USPでは数品目と少なく、EPの100品目程度と比較すると、日局やUSPでは規格試験法の中でそれほど大きな意味合いを持たせているとは考えられない。第16改正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。

今回の検討から、色の機器測定では、必ずしも専用の測定機器でなくとも、分光光度計と付属の色測定用ソフトを用いることで測定可能と考えられた。ただし、薄い色の測定時にはやや測定値に差が見られることがあるため、注意が必要である。従来色の標準液を用いた規格を、機器測定規格に置き換えるためには、規格限度付近の不純物等の

着色物質を含む試料があることが望ましく、試料溶液を希釈した場合の色の測定値の変化などを検討し、規格設定を試みる必要がある。従って、すでに承認申請時には、各局の色の比較(標準)液を使用している場合には、機器測定へ移行するのは容易なことではないとおもわれる。

D-2 誘導結合プラズマ発光分光分析法(ICP-AES)及び誘導結合プラズマ質量分析法(ICP-MS)の設定の検討

USP、EP及びJISに収載されているICP-MSに関する試験法とJPに収載予定のICP-MSの試験法との比較を行った。JPでは汎用型のICP-MSを使用した分析に焦点を絞り、最新の技術を取り入れて、実際の確認試験や純度試験に使用されることを想定した試験法となっている。国際調和を図る際にもJPの試験法が汎用性や実効性において最も確実であると考えられた。

D-3 個別金属測定法に関する検討

USPに収載された元素不純物試験に関する調査を行い、わが国で流通する医薬品や添加剤について試験の実施を試みた。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、良好な分析が可能であることが示唆された。今後も引き続き、JPでの収載を判断するために必要な調査、研究を進めていく。

E. 健康危険情報

該当する情報なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 四方田千佳子、一般試験法の改正・理化学試験法、薬局、62、58-64(2011)

2) 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

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 知的所有権の取得状況

2. 実用新案登録

なし

表1 日局の色の比較液(A~T)とEPの色の標準原液(B, BY, Y, GY, R)の組成の比較

	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	水	合計mL	同組成
A	0.1	0.4	0.1	4.4	5.0	
B	0.3	0.9	0.3	3.5	5.0	
C	0.1	0.6	0.1	4.2	5.0	
D	0.3	0.6	0.4	3.7	5.0	
E	0.4	1.2	0.3	3.1	5.0	
F	0.3	1.2	0.0	3.5	5.0	○
G	0.5	1.2	0.2	3.1	5.0	△
H	0.2	1.5	0.0	3.3	5.0	
I	0.4	2.2	0.1	2.3	5.0	
J	0.4	3.5	0.1	1.0	5.0	
K	0.5	4.5	0.0	0.0	5.0	
L	0.8	3.8	0.1	0.3	5.0	
M	0.1	2.0	0.1	2.8	5.0	
N	0.0	4.9	0.1	0.0	5.0	
O	0.1	4.8	0.1	0.0	5.0	☆
P	0.2	0.4	0.1	4.3	5.0	
Q	0.2	0.3	0.1	4.4	5.0	
R	0.3	0.4	0.2	4.1	5.0	
S	0.2	0.1	0.0	4.7	5.0	□
T	0.5	0.5	0.4	3.6	5.0	◇
B(褐色)	1.5	1.5	1.2	0.8	5.0	◇
BY(帯褐黄色)	0.5	1.2	0.2	3.1	5.0	△
Y(黄色)	0.3	1.2	0.0	3.5	5.0	○
GY(帯緑黄色)	0.1	4.8	0.1	0.0	5.0	☆
R(赤色)	1.0	0.5	0.0	3.5	5.0	□

表2 EPの色の標準液の組成比と日局比較液の類似組成のもの比較

	(%)	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	塩酸10g/L	合計mL
B(褐色)	100	1.5	1.5	1.2	0.8	5
B1	75	1.125	1.125	0.9	1.85	5
B2	50	0.75	0.75	0.6	2.9	5
B3	37.5	0.5625	0.5625	0.45	3.425	5
T		0.5	0.5	0.4	3.6	5
B4	25	0.375	0.375	0.3	3.95	5
B5	12.5	0.1875	0.1875	0.15	4.475	5
B6	5	0.075	0.075	0.06	4.79	5
B7	2.5	0.0375	0.0375	0.03	4.895	5
B8	1.5	0.0225	0.0225	0.018	4.937	5
B9	1	0.015	0.015	0.012	4.958	5
BY(帯褐黄色)		0.5	1.2	0.2	3.1	5
G		0.5	1.2	0.2	3.1	5
BY1	100	0.5	1.2	0.2	3.1	5
BY2	75	0.375	0.9	0.15	3.575	5
BY3	50	0.25	0.6	0.1	4.05	5
BY4	25	0.125	0.3	0.05	4.525	5
BY5	12.5	0.0625	0.15	0.025	4.7625	5
BY6	5	0.025	0.06	0.01	4.905	5
BY7	2.5	0.0125	0.03	0.005	4.9525	5
Y(黄色)	100	0.3	1.2	0	3.5	5
F		0.3	1.2	0	3.5	5
Y1	100	0.3	1.2	0	3.5	5
Y2	75	0.225	0.9	0	3.875	5
Y3	50	0.15	0.6	0	4.25	5
Y4	25	0.075	0.3	0	4.625	5
Y5	12.5	0.0375	0.15	0	4.8125	5
Y6	5	0.015	0.06	0	4.925	5
Y7	2.5	0.0075	0.03	0	4.9625	5
GY(帯緑黄色)	100	0.1	4.8	0.1	0	5
O		0.1	4.8	0.1	0	5
GY1	25	0.025	1.2	0.025	3.75	5
GY2	15	0.015	0.72	0.015	4.25	5
GY3	8.5	0.0085	0.408	0.0085	4.575	5
GY4	5	0.005	0.24	0.005	4.75	5
GY5	3	0.003	0.144	0.003	4.85	5
GY6	1.5	0.0015	0.072	0.0015	4.925	5
GY7	0.75	0.00075	0.036	0.00075	4.9625	5
R(赤色)	100	1	0.5	0	3.5	5
R1	100	1	0.5	0	3.5	5
R2	75	0.75	0.375	0	3.875	5
R3	50	0.5	0.25	0	4.25	5
R4	37.5	0.375	0.1875	0	4.4375	5
R5	25	0.25	0.125	0	4.625	5
S		0.2	0.1	0	4.7	5
R6	12.5	0.125	0.0625	0	4.8125	5
R7	5	0.05	0.025	0	4.925	5