

**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**

**医薬品品質保証システムの進歩に対応した日本薬局方の改正のための研究**

研究代表者 奥田晴宏 国立医薬品食品衛生研究所 副所長

**研究要旨**

第 17 改正日本薬局方作成の基本方針では、(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いる。本研究班はこの基本方針のもと、ICH や WHO 等における国際的な取組みを踏まえつつ、薬局方の改正に向けた必要な検討を行うことを目的とし、研究を実施、下記の結果を得た。

- 1) 化学薬品分野：ラマン分光法はアセトアミノフェンなどの結晶多形の判別に有効であった。特に超低波数及びアンチストークス領域のラマンスペクトルについては結晶多形の判別性が高く、原薬の確認試験に用いるには有効であると考えられた。
- 2) 製剤総則・製剤試験法分野：吸収促進剤 AOT と OTG の促進メカニズムを解明した。AOT は皮膚との親和性が高く、医薬品の皮膚透過性を向上すること、OTG は角質層のセラミドの疎水側鎖の conformation を変化させることにより、医薬品の皮膚透過性を改善することが明らかとなった。
- 3) 生物薬品分野：第十六改正 HMG 各条において純度試験とされている LH 活性試験は定量試験とすべきであること、また、卵巣アスコルビン酸減少法の取り扱いに問題があることを明らかにした。
- 4) 生薬分野：酸棗仁の確認試験の指標成分及びインドナツメに対する純度試験の指標成分を探索した。その結果 oleanolic acid をインドナツメに対する純度試験の指標成分とすることが妥当と考えられた。
- 5) 添加剤分野：医薬品各条の国際調和が進められているアルファー化デンプンと部分アルファー化デンプンについて、国際調和にあたっての問題点を考察した。乳糖水和物の澄明性試験における溶解方法を検討し、再現性のある試験結果を得ることができた。
- 6) 理化学試験法分野：USP<233>に準拠した ICP 質量分析法は問題なく実施可能であり、一日摂取量を 10g とした場合の規制値に対する測定は、検討したいずれの分析法でも可能であることを明らかとした。
- 7) 医薬品名称分野：化学合成医薬品原薬の不純物を局方に記載する際の構造式・化学名等の記載方法を検討した。

#### 研究分担者

奥田晴宏（国立医薬品食品衛生研究所 副  
所長）

寺田勝英（東邦大学薬学部 教授）

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 室長）

阿曾幸男（国立医薬品食品衛生研究所薬品  
部 室長）

四方田千佳子（（独）医薬品医療機器総合機  
構）

栗原正明（国立医薬品食品衛生研究所有機  
化学部 部長）

#### 研究協力者

各分担研究報告書に記載した。

### A 研究目的

日本薬局方は、我が国の医薬品の品質を適正に確保するために必要な規格・基準及び標準的試験法等を示す公的な規範書であり、公的・公共・公開の医薬品品質規範書と位置づけられている。そのため、局方に採用される試験方法や医薬品各条の規格及び試験方法には普遍性が要求されている。

一方、医薬品の品質保証システムは、最近の ICH 等での品質ガイドラインで示されるように、大きく変化しつつあり、最新の科学の採用を推奨するとともに、リスクベースな方法へと変わりつつある。その結果、局方試験を最終製品について実施し、規格に適合しているかを確認することによるものから、製造工程を管理することによる品

質の担保へとシフトしてきている。分析法も長足の進歩を遂げ、リアルタイムリリースに適用可能な新しい試験法も開発されている。さらに、医薬品のサプライチェーンは一層国際化し、医薬品の円滑かつ安全な流通のためには、局方の国際調和が求められ、WHO が主導して、Good Pharmacopoeial Practice (GPhP)の作成に向けての取り組みが始まろうとしているところである。

このような状況に対応すべく、第 17 改正日本薬局方作成の基本方針では、(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いる。本研究班はこの基本方針のもと、ICH や WHO 等における国際的な取組みを踏まえつつ、薬局方の改正に向けた必要な検討を行うことを目的とする。

研究班は局方改正原案の作成の中核を担っている各委員会の専門家から構成され、(1)化学薬品各条ならびに試験法の検討、(2)生物薬品各条ならびに試験法の検討、(3)生薬各条および試験法の検討、(4)医薬品添加剤に関する検討、(5)理化学試験法の検討、(6)製剤総則および製剤試験法の検討、(7)医薬品名称の策定および原則の改正、の各分野の課題について、適宜横断的な協力を行いながら研究を行った。

### B 研究方法

#### B-1 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

ラマン分析法の判別性を評価するため、測定対象試料として化学構造が同じである

が結晶構造が異なり、品質上判別する重要性がある結晶多形を持つ化合物として、アセトアミノフェン、プロブコール、インドメタシン及びアセトアミノフェン含有製剤を選択した。また、一般的なラマン分光法のみならず近年、医薬品品質評価への応用が有望視されている超低波数及びアンチストークス領域を用いたラマン分析法についても検討を行った。

## B-2 製剤総則および製剤試験法に関する研究

モデル医薬品としてブメタニド (BMT) を 5.0%、吸収促進剤として 2-エチルヘキシルスルホコハク酸 (商品名 AOT) もしくは n-オクチル-β-D-チオグルコシド (略称 OTG) をそれぞれ 5.0% と 2.5% 添加し、経皮吸収製剤を調製した。

フィルム製剤を動物皮膚に貼付し、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS 溶液) で 37 °C において皮膚透過試験を行い、医薬品累積透過量 ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) を求めた。透過試験前に 1 時間水和させた皮膚と水和させなかった皮膚を用いた。

フィルム製剤中における医薬品拡散性の評価は、Active 製剤と Placebo 製剤と重ね合わせ、温度 40 °C において一定時間保存し、ラマン分光計により経皮吸収製剤中の医薬品濃度プロファイルを算出し、拡散速度定数 (D) を求めた。

## B-3 生物薬品の試験法及び各条規格の改正に関する研究

HMG 剤として、HMG 注射用 150 IU 「テイゾー」(あすか製薬)、「TYK」及び 100 IU

「TYK」(大正薬品工業)、「フェリング」(フェリングファーマ)、「F」(富士薬品工業)を用いた。修飾トリプシンはプロメガ社より購入した。その他の試薬は、高純度なものを使用した。

還元カルボキシメチル化及びトリプシン消化には、300 IU の下垂体性性腺刺激ホルモンを PD-10 カラム (GE ヘルスケア) にて脱塩し凍結乾燥した。

LC/MS/MS として、液体クロマトグラフには Paradigm MS4 (Michrome BioResources)、質量分析計には、Orbitrap Elite (ThermoScientific)、イオン源にはナノエレクトロスプレーをカラムには、L-Column L2-C18 (CERI, 0.1 x 150 mm, 3  $\mu\text{m}$ ) を使用した。

## B-4 生薬の試験法及び各条規格の改正に関する研究

以下の実験材料を使用した。中国産サンソウニン：1995~2012 年に入手した 11 検体を使用した。ミャンマー産サンソウニン：1993 及び 2011 年に入手した 5 検体を使用した。

塩基配列解析は、各検体、1 粒を粉碎した後、Maxwell 16 DNA Purification Kit (Promega, USA) を用いて、genomic DNA を調製した。このものを鋳型に用いて、PCR を行い、目的の遺伝子領域を含む DNA 断片を増幅した。PCR 産物を精製した後、ダイレクトシーケンスにより、塩基配列を決定した。塩基配列解析は、Fasmac 社 (Japan) の受託解析により行われた。

LC-MS 分析の試料の調製は以下のように実施した。中国産試料及びミャンマー産試

料を粉碎した。その粉末 1 g を正確に量り取り、メタノール 30 mL を加え、20 分間振盪抽出し、遠心分離後、上澄み液を分取した。残渣にメタノール 15 mL を加え、同様の操作を行い、上澄み液を分取した。全上澄み液を合わせ、メタノールで正確に 50 mL に調整し、それを試料溶液とした。

### 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

1) アルファー化デンブンと部分アルファー化デンブンの国際調和に関しては、アルファー化デンブンと部分アルファー化デンブンについて 3 局の医薬品各条を比較した。また、アルファー化デンブンと部分アルファー化デンブンの製造メーカーの Web ページを検索し、製法、用途等の情報を収集した。

2) 乳糖水和物の純度試験(1)澄明性試験に関する検討に関しては、試料として、EP より提供された 6 種類の乳糖水和物を用いた。観察方法に関しては、液層が約 40mm になるよう内径約 15mm の比色管に濁りの比較液、試料溶液を加えた。黒色の背景を用い、蛍光灯の光を照射し、濁りの比較液と試料溶液の濁度を比較した。

### B-6 理化学試験法の改正に関する研究

医薬品添加剤中の金属不純物分析法として、後述する 3 法のヒ素、カドミウム、鉛及び水銀の検出下限及び定量下限を、デンブンを試料として算出した。無添加試料及び無添加試料に一定量添加した試料を各 6 回測定し、添加試料から無添加試料の値を差し引いた 6 回の測定値の標準偏差(SD)について、以下の式から求めた。

検出下限 =  $t \times SD$  ( $t = 4.03$ )

定量下限 =  $10 \times SD$

なお、試料あたりの各金属の許容濃度は、1 日摂取量を 10g とした場合、ヒ素 1.5  $\mu\text{g/g}$ 、カドミウム 0.5  $\mu\text{g/g}$ 、鉛 0.5  $\mu\text{g/g}$ 、水銀 4  $\mu\text{g/g}$  である。

実施した試験方法は 1. ICP 質量分析法と 2. 原子吸光光度法による限度分析であり、後者に関しては、2-1) 日局一般試験法 7.02 プラスチック製医薬品容器試験法の鉛の試験法第一法に準じる方法及び 2-2) 原子吸光光度法(電気加熱方式または冷蒸気方式)による方法を実施した。ヒ素、カドミウム及び鉛は電気加熱方式を、水銀は冷蒸気方式を適用した。

### B-7 医薬品の名称、化学名及び構造式の改正に関する研究

他局 (EP, USP) の記載方法を調査し、化学合成医薬品不純物の日局への記載方法を検討した。例として、EP 及び USP における国際調和品目であるモンテルカストナトリウムの純度試験で規定されている不純物の不純物を対象とした。

なお、動物実験は、研究分担者が所属する研究機関の規定に従い、実施した。

## C 研究結果

### C-1 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

アセトアミノフェンにおいては、1200-1250 $\text{cm}^{-1}$  及び 1500-1600 $\text{cm}^{-1}$  付近で各結晶形におけるラマンスペクトルの違いが認められた。プロブコールにおいては、

500-650 $\text{cm}^{-1}$  及び 900 $\text{cm}^{-1}$  付近において違いが認められた。インドメタシンについては形では蛍光の影響が出てベースラインシフトを起こしており、またスペクトルも異なる部分が各所に見られた。各結晶多形のスペクトルは原薬の場合は容易に判別が可能であった。

アセトアミノフェン約 66.7%含有のカロナール錠のラマン測定では、アセトアミノフェン 1 型とほぼ一致するスペクトルが認められた。アセトアミノフェン約 30%含有の市販の風邪薬（カプセル剤）のラマンスペクトルからも、同じくアセトアミノフェン 1 型とほぼ一致するスペクトルが認められた。また 20%ほど含有しているエテンザミド由来のピークも確認された。アセトアミノフェン約 16%含有の市販の風邪薬（顆粒）のラマンスペクトルは生薬等の他の化合物が多く入っており、蛍光の影響が大きく、アセトアミノフェンに由来するスペクトル及び他の化合物由来のスペクトルについても確認できなかった。製剤の場合はラマン分光法による結晶多形のスペクトル判別は多くの製剤で可能と考えるが、他の化合物による蛍光の影響が出ないことが必須であった。

アセトアミノフェンの超低波数及びアンチストークス領域の結晶多形のラマンスペクトルは通常のラマン領域に比べ各所に明確な結晶形の違いによるスペクトルの違いが認められた。プロブコールについては類似性が高いものの 20-40 $\text{cm}^{-1}$  付近において明らかな違いが認められた。インドメタシンについては形においてはピーク強度が全体的に弱く形と大きな違いが認められ

た。添加剤では乳糖一水和物に関しては特徴的なピークが見られたが無水物ではほとんどピークは認められなかった。他にセルロースなどの添加剤もこの領域にはピークが存在しなかった。超低波数及びアンチストークス領域の各結晶多形のラマンスペクトルは、原薬の場合は一般的な領域よりも明らかな違いが見られた。

## C-2 製剤総則および製剤試験法に関する研究

### 1) 医薬品の皮膚透過試験における経皮吸収促進剤の効果の検討

各フィルム製剤の医薬品累積透過量（ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ）に関して、前処理として水和させた皮膚の場合、24 時間後の累積透過量は、「無添加」では 71.9  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 、「AOT 系」と「OTG 系」ではそれぞれ「無添加」の 3.5 倍と 3 倍であった。一方、水和させなかった皮膚における、24 時間後、「AOT 系」と「OTG 系」の累積透過量はそれぞれ、「無添加」の 4.5 倍と 2 倍であった。さらに、各製剤について透過試験の結果から各パラメータを算出した。「AOT 系」と「OTG 系」の Lag time は、「無添加」の 1/4 と 1/3 であった。さらに「AOT 系」と「OTG 系」の医薬品の皮膚透過速度  $J_s$  は、「無添加」の約 4.5 倍と 2.5 倍であった。

### 2) 吸収促進剤がフィルム及び皮膚における医薬品の移動性に及ぼす影響

吸収促進剤によって、フィルム中の医薬品残留量が製剤の違いにより顕著に異なっていることが明らかとなった。フィルムから皮膚への移行速度は 0~6 時間後では「AOT 系」が一番速く、6 時間以降では、

「OTG系」も増加した。12時間後、フィルムからの医薬品の移行速度は徐々に低下し、約16時間以降は、定常状態になっていた。

3) 各製剤における吸収促進剤の医薬品濃度分布に及ぼす影響

「AOT系」では製剤からの医薬品放出が速やかに進行すること、皮膚中の医薬品濃度が、皮膚側でより高いことが確認された。12時間後の「AOT系」では、フィルム中の濃度プロファイルがほぼ均一となり、放出が定常状態に達したことが確認された。一方、OTG系では、AOT系以上に皮膚側の医薬品濃度が高いことが確認された。

4) 皮膚中の医薬品拡散係数の変化に関する検討

OTGは皮膚角質層セラミドの疎水側鎖に変化をもたらし、結果として皮膚中での医薬品の拡散性を改善したものと考えられた。

5) フィルム製剤における医薬品拡散係数の算出

各フィルム製剤中の医薬品濃度プロファイルより医薬品の拡散速度定数を求めた結果、フィルム中の医薬品拡散速度定数はフィルムの種類と吸収促進剤の有無に関わらず、一定であることが明らかとなった。

6) 吸収促進剤がフィルムと皮膚界面の親和性に及ぼす影響

AOTを添加したフィルムと水和前の皮膚の親和性が高く、OTG系では水和後の皮膚との親和性が高かった。

### C-3 生物薬品の試験法及び各条規格の改正に関する研究

1) HMGの現状の調査

局方のLH活性に関する記述をLH活性測

定の実態に合わせる必要があると考え、製造会社におけるLH活性の管理方法について調査を行った。LH/FSH活性比が約1の製剤では、局方の規格（精の重量法）で確認し、LH/FSH活性比の低い製剤では、局方の規格に加えて、免疫学的な手法にてLH含量が少ないことを確認しているケースがあった。米国薬局方では、LHとFSHの活性比は約1であり、活性比の調節のために、LH活性の30%まで妊婦尿由来胎盤性性腺刺激ホルモン（hCG）を添加して良いことになっている。そこで、本邦におけるHMGへのhCG添加の有無についてアンケート調査したところ、添加していると回答した会社はなかった。

2. HMG製剤中のタンパク質の同定

動物を用いない純度試験を検討するため、トリプシン消化ペプチドをLC/MS/MSで分析し、HMG製剤に含まれるタンパク質成分を同定した。HMG製剤に加えて、FSH活性のみを精製した精製卵胞刺激ホルモン製剤も同時に分析した。FSHはいずれの製剤においても検出されていたが、LH及びhCGについては、検出されていない場合もあった。これは、その他のタンパク質が大量に存在していたことから、相対的な含量が少なく、検出が妨害されたと思われる。hCGが観測されていることから、閉経期婦人尿には、由来は不明であるがhCGが含まれていると思われる。LHよりもhCGの方がスコアが高く検出されていたことから、LH活性に占めるhCGの貢献度は高いことが推測される。不純物として、Serum albumin, Protein AMBP, Plasma serine protease inhibitor, Complement component C7, CD27 antigen,

Tumor necrosis factor receptor superfamily member 1B , Ribonuclease pancreatic , Alpha-1-acid glycoprotein 2 など非常に多くのタンパク質が同定された。

#### C-4 生薬の試験法及び各条規格の改正に関する研究

中国産及びミャンマー産のサンソウニンの基原種を特定するため、塩基配列解析を行った。その結果、中国産は、サネブトナツメ、ミャンマー産は、インドナツメを基原としていた。

サネブトナツメ及びインドナツメに各々の特異的成分が含まれているかを確認するため、それぞれのメタノールエキスを調製し、LC-MS 分析した。その結果、サネブトナツメ、インドナツメ、それぞれに特異的なピークの存在が明らかになった。このうち、サネブトナツメ特異的なピークは、高分解能質量分析及び標品との比較から、jujuboside A (1) と同定された。

一方、インドナツメ特異的なピークは、エキスから単離後、NMR 及び MS による構造解析を行い、frangufoline (2) と同定された。

そこで次に、サンソウニンのインドナツメに対する純度試験として、2 を指標成分とした TLC 法を検討した。しかし、2 の含量は低く、また、鋭敏な検出試薬が見出されなかったため、TLC 上での検出は困難だった。

そこで、サネブトナツメ及びインドナツメをより簡便に鑑別するため、TLC 上で各エキスに特徴的なスポットがあるのか検討した。その結果、展開溶媒を *n*-hexane:EtOAc:HCOOH = 10:5:1 とし、順相

の TLC で分析したところ、インドナツメにおいて、*R<sub>f</sub>* 値 0.43 付近に赤紫色から黒紫色に変わるスポットを確認した。そこで、この成分を単離し、構造解析を行った結果、oleanolic acid (4) と同定された。

4 がインドナツメに特異的なのかを確かめるため、それぞれのメタノールエキスを GC-MS で分析した結果、インドナツメのエキスより、4 の標品と保持時間及びマススペクトルが一致するピークを検出した。一方、同じ分析において、サネブトナツメのエキスからは、4 は、検出されなかった (LOD、2.8 µg)。以上のことから、4 はインドナツメに特異的であることが明らかとなった。

#### 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

1) アルファー化デンプンと部分アルファー化デンプンの国際調和

国際調和の候補品目であるアルファー化デンプンは、日本では医薬品添加物規格(薬添規)にアルファー化デンプンと部分アルファー化デンプンが収載されている。アルファー化デンプンは「コムギデンプン(日局)、トウモロコシデンプン(日局)又はパレイシヨデンプン(日局)を水と共に加熱してアルファー化したものを急速に乾燥したもの」と定義されている。部分アルファー化デンプンは「トウモロコシデンプン(日局)を水と共に常圧下又は加圧下で加熱して、デンプン粒を部分的にアルファー化したものを乾燥したもの」と定義されている。一方、EP (Starch, pregelatinized) および USP (Pregelatinized starch)においては1つの各条として収載されており、アルファー化デンプン

ブンと部分アルファー化デンブンを包含する定義となっている。アルファー化デンブンを包含する1つの各条とするか、別々の各条にするかによって、国際調和後の行政的対応の必要性が大きく異なると思われる。

アルファー化デンブンはバレイショデンブン由来のものの場合、アルファー化度が70-80%のものは崩壊剤、90%以上のものは結合剤として使用される。それに対して部分アルファー化デンブンは滑沢特性を有しながら、結合剤、崩壊剤、増量剤、流動補助剤の機能を有し、水に弱い薬物の安定化等の機能も有している。これらの機能はアルファー化度を精度よくコントロールすることによって実現するものと思われる。

Web 検索でヒットした医薬品用の部分アルファー化デンブンは国内、海外の製品ともにトウモロコシデンブンを原料としており、アルファー化デンブンはバレイショデンブンやトウモロコシデンブンなど複数の基原デンブンから製造される。機能や用途が異なり、基原にも差があることから、アルファー化デンブンと部分アルファー化デンブンを区別できる試験法があるのであれば、科学的には別の各条にすべきと考える。

アルファー化デンブンと部分アルファー化デンブンは偏光下の鏡検によって識別できる可能性を、平成24年度「日本薬局方の試験法等に関する研究」研究報告アルファー化デンブンと部分アルファー化デンブンの識別に関する研究において報告している。入手できた医薬品用のアルファー化デンブンにおいては偏光下での観察において複屈折による光の透過が認められる粒子はほとんどない。したがって、偏光下の鏡検によって両者の識別が可能であると考えられた。

アルファー化デンブン各条の Coordinate Pharmacopeia は日局であるので、別々の各条にする方向で調和文書案等の作成が進むと思われるが、EP、USPの賛同が得られるかどうかは本品目の国際調和の進捗を決めるものと考えられる

2) 乳糖水和物の純度試験(1)澄明性試験に関する検討

昨年度の検討の結果、「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」ことにより、ばらつきの少ない試験結果が得られることを明らかにした。本年度は EP より提供された乳糖水和物の試料について試験を行い、本溶解方法が適用可能かを検討するとともに、新たな溶解方法として室温で 30 分間攪拌する方法についても検討した。実験日を変え、3 人の観察者で試験を行った結果、溶解方法によらず、いずれの試料溶液もその濁度は濁りの比較液 以下であり、試験に適合した。また、EP より提供された乳糖水和物について、日本医薬品添加剤協会においても同様に試験を行い、全ての検体について、規格に適合することを確認した。実験室間のばらつきも少ないことが示唆された。

#### C-6 理化学試験法の改正に関する研究

USP<233>に準拠した ICP 質量分析法の全分析操作を通じての定量下限推定値はヒ素 0.05  $\mu\text{g/g}$ 、カドミウム 0.01  $\mu\text{g/g}$ 、鉛 0.06  $\mu\text{g/g}$ 、水銀 0.22  $\mu\text{g/g}$  と許容濃度 J に対して 0.02J ~ 0.12J 相当濃度であり、十分な感度があることが確認された。検出下限値は、ICP 質量分析法でしばしば言われている値よりかなり大きな値であるが、これは全操作を



通じての検出下限であるため、より現実に近い値である。

別にカドミウム及び鉛について、日本薬局方一般試験法収載の「プラスチック製医薬品容器試験法」に準拠した溶媒抽出法を用いて原子吸光光度計により定量下限の推定を行ったところ、カドミウム 0.02 µg/g、鉛 0.13 µg/g と許容濃度 J に対して 0.04J ~ 0.26J 相当濃度であった。なお、添加回収率の平均値はカドミウム 104 %、鉛 117 % と良好な結果が得られた。溶媒抽法を伴う特殊な方法ではあるが、通常の原子吸光光度計でも、規格試験に適用可能であることが示差された。

また、ICP 質量分析法において調製した試料溶液について、日本薬局方一般試験法収載の「原子吸光光度法(電気加熱方式または冷蒸気方式)」検量線法で測定を行ったところ、ヒ素 0.28 µg/g、カドミウム 0.02 µg/g、鉛 0.14 µg/g、水銀 0.20 µg/g と許容濃度 J に対して 0.04 ~ 0.28J 相当濃度の結果が得られ、ICP 質量分析法と同様に有効な方法であることが確認された。なお、電気加熱方式の添加回収率はヒ素 76 %、カドミウム 78 %、鉛 94 % であった。ヒ素及びカドミウムの回収率が若干低めの傾向であったが、これは、検量線法を用いて測定したことが原因であると考えられた。電気加熱方式はマトリックスの影響を受けやすいため、標準添加法で測定することで改善されると予想される。水銀の添加回収率は 99 % と良好な結果が得られた。

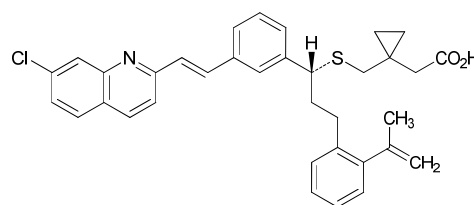
### C-7 医薬品の名称、化学名及び構造式の改正に関する研究

モンテルカストナトリウムの純度試験で

規定されている不純物不純物の構造式、化学名英名、化学名日本名を検討した。日局の本文記載の通例に従い、化学名日本名も併せて検討した。以下に検討例を示す。

(1-{{{(1R)-1-{3-[(1E)-2-(7-Chloroquinolin-2-yl)ethenyl]phenyl}-3-[2-(1-methylethenyl)phenyl]propyl)sulfanyl}methyl}cyclopropyl)acetic acid

(1-{{{(1R)-1-{3-[(1E)-2-(7-クロロキノリン-2-イル)エテニル]フェニル}-3-[2-(1-メチルエテニル)フェニル]プロピル)スルファニル]メチル}シクロプロピル)酢酸



## D 考察

### D-1 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

ラマン分光法は一般的に結晶多形の判別が効率よく行える傾向があると言われている。非破壊手法で同様な用途として用いられる近赤外分光法では、測定において温度などの外部環境や粒子径など物性の影響を受けやすいなどの欠点がある。また、用いる波数帯も結晶多形の判別には向いておらず、結晶多形の判別は難しかった。ラマン分光法、特に今回用いた超低波数及びアンチストークス領域のラマンスペクトルは波数のシフトの少ない=エネルギーの低い結合が示される領域である。弱い分子同士の結びつきに関わる情報が出てくるため、化学的には変わりがない結晶多形の判別には

最適な方法と考える。同領域を利用するテラヘルツ分析法もあるが、空気中の水分に影響を受けるため、主薬の確認試験、特に製造現場で用いることに限ればラマン分光法による分析の方がより有用性が高いと考えられる。

製剤においては、原薬以外にも賦形剤などの添加剤が入っており、測定、解析にはその影響を考慮する必要がある。医薬品に一般的に使われるスターチ、セルロース系の添加剤はラマンスペクトル強度が全体的に弱く、特徴的なピークも少ない。製剤中の主薬の確認試験には添加剤のピークが無い方が有利ではあるが、これらの添加剤は蛍光を発生するものが多く、多量に含まれる場合は一般的な領域を用いたラマン分光法による分析には適さない。また主薬の中にも蛍光を発生するものがあり、そのため製剤処方によっては解析が難しいものもあると考えられる。超低波数及びアンチストークス領域のラマンスペクトルを利用することができれば、蛍光による妨害を防ぐことができる上、結晶性に関する情報が多く得られることから、蛍光を発生する化合物や結晶多形が存在する化合物が含まれる製剤をより効率的に判別することが可能であると考えられた。

## D-2 製剤総則および製剤試験法に関する研究

皮膚透過試験を通じて、各製剤における経皮吸収促進剤の促進効果を確認した。また、顕微レーザーラマン分光計を用い、経皮吸収製剤の基剤として用いたフィルム及び皮膚中における医薬品の分散状態および

拡散挙動を測定することで、吸収促進剤が医薬品の拡散に及ぼす影響について検討し、皮膚への医薬品放出の促進メカニズムを検討した。AOT は皮膚との親和性が高く、医薬品の皮膚透過性を向上させた。一方、OTG は水和させた皮膚との親和性が高く、角質層のセラミドの疎水側鎖の conformation を変化させることにより、医薬品の皮膚透過性を改善することが考察された。

## D-3 生物薬品の試験法及び各条規格の改正に関する研究

HMG は FSH 作用及び LH 作用を有していること、また、FSH 及び LH 活性はどちらも有効性及び安全性に係わることから適切に管理されている必要がある。そこで、LH は純度試験ではなく定量試験とすべきではないかと考え、生物薬品委員会での議論を求めた。この点について、生物薬品委員会で、実際に使用している医療機関の意見及び製造メーカーの意見を聞き、実態に合わせて修正することに決まった。また、LH 活性の測定法が二種類あることに関して、卵巣アスコルビン酸減少法は LH/FSH 活性比の低い製剤で使用されていることが分かり、この点についても、LH の測定法の記述を実態に合わせて修正することに決まった。つまり、LH/FSH 活性比がある値以下の場合にだけ使用できるという形になると予想される。しかしながら、試験の適否の判定が、LH/FSH 活性比が 1 以下ということであれば、本試験を実施する必要性が不明であり、本試験法の取り扱いについて議論する必要がある。また、卵巣アスコルビン酸減少法は動物を用いたバイオアッセイで

あり、精度及び感度が低いことから、動物を用いない精度及び感度の高い分析法へ置き換えることが望ましいと考えられる。

今回 HMG 製剤の状況を調べた結果、市販されている製剤の LH/FSH 活性比については、一部の製剤では明確に示されていないことが分かった。治療上重要な医薬品の特性については情報が適切に提供されていることが必要であり、LH/FSH がどのレベルで調整されているのかが明確にされていることが望ましいと思われた。

また、FSH 活性や LH 活性測定を理化学的試験法や ELISA 等の免疫化学的方法に置き換えられないかを検討する目的で、HMG 製剤に含まれる不純物タンパク質の同定を行った。その結果、非常に多くのタンパク質が混在していることが分かった。また、LH の量は微量であること、及び hCG も含まれており、HMG の LH 活性は、LH と hCG の両方よることが示唆された。この結果より、LH 活性測定の代替えとしては、理化学的試験法は難しく、ELISA のような免疫学的手法を用いて、hCG と LH の両方を評価する方法がよいのではないと思われた。

#### D-4 生薬の試験法及び各条規格の改正に関する研究

酸棗仁は、クロウメモドキ科サネブトナツメ *Ziziphus jujuba* の種子を基原とする生薬である。酸棗仁には、正品を基原とする中国産の他に、インドナツメ *Ziziphus mauritiana* を基原とするミャンマー産があり、類似の外観を有するこれらの生薬を鑑別することは重要である。そこで、本研究では、これらの生薬の基原種を塩基配列解

析で同定した後、酸棗仁の確認試験及びミャンマー産に対する純度試験のための指標成分の探索を行った。その結果、LC-MS 分析において、中国産の特異的成分として標品との比較により jujuboside A (1)が同定され、酸棗仁の確認試験の指標成分として適当であると思われた。

また、ミャンマー産に対する純度試験の指標成分を探索する目的で、ミャンマー産の特異的ピークを指標とした成分分画を行い、oleanolic acid (4)を得た。4がミャンマー産に特異的な成分なのかを確かめるため、各生薬エキスを GC-MS で分析した結果、中国産には4が含まれず、検出限界以下だったことから、4はミャンマー産に特異的な成分であることが明らかになった。従って、酸棗仁のインドナツメに対する純度試験の指標成分は4が妥当と思われる。

#### 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

##### 1) アルファー化デンブンと部分アルファー化デンブンの国際調和

アルファー化デンブン、部分アルファー化デンブンの医薬品各条の国際調和を進めるにあたっての問題点を考察した。これまでも複数のタイプの製品がある医薬品添加剤の国際調和が行われており、黄色ワセリンと白色ワセリンや軽質無水ケイ酸と含水二酸化ケイ素のように別々の各条として調和する場合や、ヒプロメロースやデンブングリコール酸ナトリウムのようにファミリーモノグラフとして1つの各条として調和する場合がある。いずれの場合にも個々の品目に対する定義が3薬局方で同じであっ

た。アルファ化デンプン、部分アルファ化デンプンは日局と EP、USP との間で定義が異なるため、調和するためには日局または EP、USP の定義の変更が必要になり、困難を伴うものと考えられる。また、医薬品用として流通するすべての部分アルファ化デンプンとアルファ化デンプンが、偏光下の鏡検によって識別できるかについての調査研究も必要であると考えられる。

## 2) 乳糖水和物の純度試験(1) 澄明性試験に関する検討

乳糖水和物の純度試験(1) 澄明性試験について、実験室間で再現性のある結果を得ることができた。溶解方法を統一することや判定の際の目視の方法を統一したことにより、実験室間で再現性のある結果が得られたものと考えられる。しかし、判定基準に近い濁度をもつ試料については、実験室間で適否判定に差が生ずる可能性は否定できないため、室間再現性については更に検討する必要があると思われる。

## D-6 理化学試験法の改正に関する研究

第 16 改正日本薬局方第一追補で、一般試験法として 2.63 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を収載し、ICHQ3D 金属不純物のガイドラインの調和に向けた準備を整えた。今後、ICHQ3D の調和が進むと、金属の測定法のための基本的な一般試験法を 3 薬局方で調和する予定となっている。そこで、昨年度は、USP に既に収載されている 233 金属不純物 - 操作を検討することとし、記載されている方法に従って、我が国の市販医薬品テプレノン細粒、エダラボン注射剤、および添加剤から日本薬局方バレイシヨデン

プンを取り上げて、鉛、水銀、ヒ素、鉛の含有量評価及び添加回収試験を実施し、問題なく実施可能であることを確認した。本年度は、昨年度に分析を試みた 4 種の金属について、デンプンを試料として添加回収試験全体を通した定量限界を求め、含有量の有効桁数がどの程度であるかを明らかとすることとした。

国際調和が予定されている一般試験法は、ごく基本的な一般原則を示すもので、実際の測定操作の事例を示すものではない。そのため、個別の規格試験法に記載する分析操作法の事例を示して欲しいという要望もあり、今後、汎用されるところとされる試験法を参考情報等に記載することも必要であると考えられる。

## D-7 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) について、医薬品の構造・品質管理の高度化と国際化に対応するために必要な検討事項を抽出し、今後の JP の改正作業に資することを目的とした。今年度は化学合成医薬品原薬中の不純物の構造式等の記載方法について検討した。USP や EP では個々の不純物の構造式および/あるいは化学名を記載して、不純物を特定している。今後、化学合成医薬品の純度試験に関して国際的な整合を図る際には、不純物の構造式等の記載

を考慮することは重要であると考えられる。

## E 結論

### E-1 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

ラマン分光法はアセトアミノフェンなどの結晶多形の判別には有効であった。特に超低波数及びアンチストークス領域のラマンスペクトルについては、結晶多形の判別性が高く、原薬の確認試験には有効であると考えられた。製剤の確認試験への応用については、錠剤、カプセル剤のような製剤に適応が可能であった。しかし医薬品原料の中には、蛍光を発するものもあるため、測定が難しい場合があることが判明した。

### E-2 製剤総則および製剤試験法に関する研究

吸収促進剤 AOT と OTG の促進メカニズムを解明した。AOT は皮膚との親和性が高く、医薬品の皮膚透過性を向上させた。一方、OTG は水和させた皮膚との親和性が高く、角質層のセラミドの疎水側鎖の conformation を変化させることにより、医薬品の皮膚透過性を改善することが明らかとなった。

### E-3 生物薬品の試験法及び各条規格の改正に関する研究

第十六改正 HMG 各条において純度試験とされている LH 活性試験は定量試験とすべきであること、また、卵巣アスコルビン酸減少法の取り扱いに問題があることを明らかにした。その結果、生物薬品委員会で、医療機関及び製造メーカーの実態を調

査し、その結果を踏まえて、LH 試験を見直すこととなった。

動物を用いない純度試験作成のための予備的検討を行い、HMG 製剤中には非常に多くの不純物タンパク質が含まれていることを明らかにした。

LH 活性は LH と hCG 両方によるものであることが示唆されたことから、動物代替法として、免疫学的手法などを用いて、hCG と LH の両方を評価する必要性が示唆された。

### E-4 生薬の試験法及び各条規格の改正に関する研究

酸棗仁の確認試験の指標成分及びインドナツメに対する純度試験の指標成分を探索した。その結果、サネブトナツメに特異的な成分として、jujuboside A (1)を、インドナツメに特異的な成分として、franguloline (2) 及び oleanolic acid (4)を同定した。4 は、種固有の成分ではないものの、2 と異なり、エキスの TLC 分析で検出可能なことから、4 をインドナツメに対する純度試験の指標成分とすることが妥当と考える。

### E-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

医薬品各条の国際調和が進められているアルファー化デンプンと部分アルファー化デンプンについて、交際調和にあたっての問題点を考察した。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。

#### **E-6 理化学試験法の改正に関する研究**

USP<233>に準拠した ICP 質量分析法は問題なく実施可能であり、一日摂取量を 10g とした場合の規制値に対する測定は、検討したいずれの分析法でも可能であることが明らかとなった。

#### **E-7 医薬品の名称、化学名及び構造式の改正に関する研究**

化学合成医薬品原薬の不純物を局方に記載する際の構造式・化学名等の記載方法を検討した。

#### **F. 健康危険情報**

なし

#### **G. 研究発表**

各分担研究報告書に記載した。

#### **H. 知的財産権の出願・登録状況**

なし