

日本医療研究開発機構 創薬基盤推進研究事業 事後評価報告書

I 基本情報

補助事業課題名：次世代医薬品の効率的実用化推進のための品質評価技術基盤の開発

Development of technical bases for evaluating the quality of next-generation pharmaceuticals
for efficient commercialization

実施期間：平成29年5月1日～令和4年3月31日

補助事業担当者 氏名：合田幸広

Yukihiro GODA

補助事業担当者 所属機関・部署・役職：

国立医薬品食品衛生研究所 所長

Director General, National Institute of Health Sciences

II 補助事業の概要

医薬品は規制下に生産される為、新規な次世代医薬品の創出を効率的に推進するには、生産段階まで見据え長期に渡る医薬品の各開発段階において配慮すべき技術要件を明確にする必要がある。さらに開発から承認申請の過程で利用される品質評価法や品質確保要件を明確にし、新規医薬品の特性に応じた品質評価のための技術基盤の確立が必要となる。

本研究は、新規な次世代医薬品開発時の様々な品質特性の評価を容易にし、医薬品の効率的実用化推進を目的としたものである。組織としては、承認申請等において要求される技術要件や評価法を熟知した国研の研究者と、製品開発経験の豊富な企業研究者、技術要件の基盤的研究を行う大学研究者が共同研究体制を組み、標準技術要件を明らかにする基礎データを収集すると共に、日本の承認申請システムをよく理解した上で最新の科学的知見を取り入れた品質確保の為の評価法を開発、次世代医薬品が効率的に開発・承認される為の品質評価技術基盤の確立を目指すものである。

本研究は、大きく I 医薬品製剤（製剤と生産を指向した医薬品の品質評価手法の開発と標準化に関する研究）、II 先端的バイオ医薬品（次世代バイオ医薬品の効率的実用化推進のための品質評価法の開発と標準化に関する研究）、III 天然物医薬品（天然物医薬品の実用化推進に資する標準化及び品質評価技術基盤の開発）の3グループに分かれ、I では、A 先端的 DDS 製剤の品質評価法の標準化に関する研究、B 先端的分析法を用いた製剤開発及び製造工程評価手法の標準化に関する研究、C 非晶質医薬品製剤の保存安定性の短期評価法の標準化に関する研究、D 製剤開発における体内挙動予測ソフトウェア活用による生物学的同等性の確保、E エンドトキシン及び制がん剤等化学物質の液相下不活化法並びに滅菌法の開発を実施した。II では、A バイオアッセイ試験法の標準化とバイオ医薬品分析法 QbD における技術指針の確立、B 注射剤の不溶性微粒子試験法の標準化とタンパク質凝集体試験法の評価と標準化、C 糖鎖試験法の開発、評価と標準化、D 宿主細胞由来タンパク質 (HCP) 試験法の評価と標準化、E アレルゲンの品質管理と力価試験法の標準化について検討する。III では、A 配

合生薬エキス製剤の実用化推進に資する品質評価技術基盤の開発研究， B 単味生薬エキス製剤の実用化推進に資する標準化及び品質評価法の開発研究， C 漢方エキス製剤の実用化促進のための安全性・有効性を担保する品質評価技術に関する研究， D 原料生薬の遺伝子解析を利用した品質標準化と理化学試験に関する研究を実施した．以下に各グループ毎の事業成果を記述する．

I 製剤と生産を指向した医薬品の品質評価手法の開発と標準化に関する研究

A 先端的 DDS 製剤の品質評価法の標準化に関する研究

1) DDS 製剤の品質評価法の標準化に関する研究

ナノテクノロジー応用医薬品やペプチド利用医薬品など先端的 DDS 製剤の品質評価に必要な評価法の開発と標準化研究を行った．初年度は，原子間力顕微鏡 (AFM)，円二色性分散計 (CD) を対象とし，評価法の国際的動向調査及び標準化研究を行った．2, 3 年度は共同研究者らとの十分な連携体制のもと継続的に研究を行い，標準的試験法案を作成した．特に，CD 法は日本薬局方の一般試験法案として原案検討委員会に提出し，JP18 第一追補に収載される予定である．4, 5 年度は，ナノ医薬品のサイズや表面修飾状態の評価法に関する課題・現状を整理し論文投稿を行った．さらに，エクソソーム等の細胞外小胞に汎用されつつあるナノトラッキング解析法の標準化に向けた検討を行い品質評価時の留意点を明確化し，国際的な英文雑誌に掲載された．

2) 膜透過ペプチドの物理化学的特性評価法と機能特性に関する研究

初年度及び2年度は，両親媒性を付与したアルギニンペプチドを新規に開発し，細胞脂質膜や糖鎖との相互作用特性の物理化学的解析を行うことで，両親媒性 α -ヘリックス構造形成がアルギニンペプチドの細胞膜直接透過を促進する重要な因子であることを明らかにした．3, 4 年度は，ペプチド二次構造制御法としてのポリプロンリン II ヘリックス構造に着目したアルギニンペプチドを新たに設計し，その二次構造形成性や膜傷害性の解析から，安定なポリプロンリン II ヘリックス構造の付加は膜傷害性を高めることなくアルギニンペプチドの細胞膜透過性を亢進する有用な手法であることが示された．最終年度は，ペプチドの両親媒性度の最適化による膜透過機能の合理的制御法開発に向けて，疎水性モーメントの異なるアルギニンペプチドの二次構造形成性や脂質膜結合性などの物理化学的特性と脂質膜摂動作用や細胞膜傷害性などの機能特性との相関解析を行った．

B 先端的分析法を用いた製剤開発及び製造工程評価手法の標準化に関する研究

3) 医薬品品質解析手法の開発及び標準化研究

テラヘルツ (THz) 分光法，近赤外イメージング (NIR-CI) 法，ラマン分光法等を用いた製剤の物性評価ならびに連続生産における Process Analytical technology (PAT) の開発及び標準化研究として，減衰全反射 (ATR) THz 分光法を用いた水和転移，溶媒残存量のリアルタイム計測法の開発，溶媒媒介による非晶質の結晶化過程における結晶化率の計測手法の開発，でんぷん糖化過程等の連続モニタリング手法の確立ならびに工程解析用小型ラマン分光器の開発を行った．また，透過ラマン分光法を用いた製剤均一性評価の検討では，主薬の分布が大きく偏る製剤では対照法である UV 法との定量値の乖離がおきる傾向がみられ，この現象は各分析手法での測定領域が異なることが原因であることを見出した．固形製剤製造における高精度モニタリング手法の開発では，回転中の錠剤コーティング水平ドラムの回転中に錠剤中のタルクを示すスペクトルを透過測定部より得ることに成功した．点眼剤プロセスにおける泡沫の評価系開発では，起泡および消泡に影響する界面活性剤と水溶性高分子の特性評価を行い，濃度依存的に起泡性・消泡性に影響を与えていること，また製造プロセス中に発生する泡沫は製剤含量の不均一化，充填精度等の製造性に影響することを明らかとした．NIR 及びラマンプローブを用いた造粒顆粒中の主薬定量法の開発では，造粒顆粒中の主薬含量を定量する検量線の精度に影響を与える外乱 (粉体特性等) について，外乱の種類や影響の大きさが異なるかを検証し，頑健性の高い NIR 分光法及びラマン分光法の検量線モデル作成を行うことができた．また検量線の精度に影響を与える可能性がある3つの外乱因子 (結合剤濃度，崩壊剤濃度，粒子径) について，両法における予測精度の検証及び外乱因子の特定作業の結果，NIR 分

光法では重回帰分析において顆粒粒子径の影響により予測精度が低下したが、ラマン分光法では良好な予測精度を示すことが明らかとなり、検量線モデルに外乱を設定しなくても PAT の運用が可能であることを示した。

4) テラヘルツ分光法及び X 線イメージングを用いた錠剤の物性評価

複数の水和数をもつ抗生物質を例として、周囲の環境に依存した錠剤中の水和数の変化についてテラヘルツ分光法を用いて評価し、水素結合のネットワークの違いに基づくスペクトルの差を検出可能なことを示した。また、X 線吸収端近傍構造スペクトル (XANES) を医薬品品質評価に応用するため、モデル薬物を含む複数の結晶サンプルの調製及びそれらの物性評価を実施した。モデル薬物としてスルファメトキサゾール (SMX) を選択し、水酸化ナトリウム溶液、塩酸、ベンゼンスルホン酸 (BSA)、ピペラジン (PPZ) を用いて塩を調製した。得られた各析出物に対し、粉末 X 線回析、熱分析及び単結晶構造解析により同定を行い、SMX : BSA = 1 : 1, SMX : PPZ = 1 : 1 (結晶多形 2 種類), SMX : 塩酸 = 1 : 1, SMX : 塩酸 = 2 : 1 の新規塩を調製したことを確認した。溶解性測定において、ナトリウム塩と 2 種類の PPZ の塩が SMX (Form I) よりも約 15 倍高くなったことを明らかとした。一方、BSA の塩及び SMX : 塩酸 = 2 : 1 の塩では溶解性が遊離化合物の約 1/4 に低下したことが明らかとなった。この結果について、各塩の溶液の pH 測定の結果から、強酸との塩の溶解により pH が低下し、SMX が溶けにくくなったことが考えられ、SMX をアニオン型の塩とすることで溶解性が改善されることが示唆される結果を得た。

C 非晶質医薬品製剤の保存安定性の短期評価法の標準化に関する研究

5) 分子運動性に基づく非晶質医薬品製剤の安定性予測法の開発

・非晶質試料の物理的な安定性評価

モデル薬物としてアセトアミノフェン、エストラジオール、エムトリシタビン、テストステロン、フェロジピン、ニフェジピンの 6 種を選択し、全ての参加機関で対応可能な熔融法を調製法として採用した。比較的結晶化速度の速いニフェジピンを用いて参加機関の実験手技統一を図った後、高温領域における加速試験及び 25°C での長期安定性試験における結晶化速度の実測値を得た。

・分子運動性評価法の標準化

示差走査熱量計 (DSC) を用いたエンタルピー緩和時間 (τ) とフラジリティの測定において、普遍性のある測定条件を設定し、モデル薬物についての結果を得た。また、熱刺激電流法による分子運動の解析を試み、ガラス転移の活性化エネルギーを算出するとともに、 τ の長期化に関する新たな知見を得た。

・分子運動性に基づく安定性短期間評価法の標準化

分子運動性評価で求めた τ やフラジリティを分子運動の記述式に適用し、分子運動の温度依存性曲線を算出した。実測の結晶化速度は、分子運動から算出した予測値とは異なる温度依存性を示した。複雑な分子構造を有する薬物では、分子運動性との比較において、結晶核の形成速度の優位性が高まることから、その理由として考えられた。安定性を短期間で予測評価するために重要な他の因子 (核生成速度) と、その寄与の程度を明らかにすることができた。

6) 各種非晶質医薬品製剤の調製及び保存安定性評価法の開発

・エンタルピー緩和時間を利用した分子運動性評価

加熱許容性のスクリーニングにより決定したモデル薬物について、熔融法で非晶質を調製し、DSC 測定によりエンタルピー緩和時間の算出を行った。 τ を温度の逆数に対してプロットした結果、すべての薬物において相関係数 0.98 以上の良好な相関関係が認められた。

・固体 NMR 緩和時間測定用の製剤調製

NMR 緩和時間が、妥当な測定時間で求められる薬物についてスクリーニングを行った。最適な特性を示したフェロジピンと各種医薬品添加剤ポリマーとの混和性を、DSC 測定により確認した。

・固体 NMR 緩和時間測定による保存安定性評価法の標準化

上記の検討で選定された固体分散体について固体 NMR により $^{13}\text{C}-T_1$ 測定を行い、各固体分散体中の薬物の分子運動性を評価した。薬物の固体 NMR 緩和時間と保存安定性試験との相関解析を行った結果、薬物の $^{13}\text{C}-T_1$ の値と薬物結晶化時間には正の相関が認められ、固体 NMR 緩和時間測定により非晶質製剤中の薬物の保存安定性予測が可能であることが示された。本研究結果を英文誌に投稿し、掲載された。

・低温領域における長期保存予測法の検証

エンタルピー緩和時間及び高温領域における保存安定性試験結果から VTF 式、AGV 式及び KWW 式を利用して、室温付近の保存安定性予測を行った。実測の保存安定性試験結果との相関解析を行ったところ、薬物種によって最適な予測式が異なることが示された。

D 製剤開発における体内挙動予測ソフトウェア活用による生物学的同等性の確保

後発医薬品の生物学的な同等性確保した製剤の合理的な開発に向け、一般的な開発手法では問題を生じやすい有効成分等を対象に経口固形製剤の製剤設計の課題を検討するとともに、消化管内の環境を反映する溶出性評価と予測方法の開発により、患者の消化管内環境の多様性への対応を図った。

7) 製剤評価法活用

初年度に参加企業におけるヒト試験で同等性が確認できないことによる中止例を含めた開発データを解析した。開発の困難さが事前に想定された難溶性医薬品 (BCS Class 2, 4) の多くは、溶解・溶出改善技術を活用した慎重な製剤設計により問題発生例が少なかったのに対し、消化管内の移動過程における pH 変動を原因とした溶出と再結晶化を起こす有効成分、および口腔内崩壊錠の水なし服用時の同等性確保が課題となることが示され、それに対応する評価、予測方法の検討を進めた。消化管内で吸収を経ずに局所作用する医薬品について、潰瘍性大腸炎を対象とした徐放性製剤をモデルとして特性評価を行うとともに、同等性評価における一般的な医薬品との差異を、米国の製剤別同等性評価ガイダンスなど国内外の行政動向とともに総説化した。また製剤の特性に対応した溶出試験での試験液選択、および水なし服用可能な口腔内崩壊錠の評価法について検討し、生物学的同等性試験ガイドラインと同 Q&A 改訂 (2020) での結果を活用した。高齢の患者層における同等性確保のため、消化管内環境の検討を進めた。

8) バイオアベラビリティ変動因子解析

後発医薬品開発時のヒト試験における非同等の有力な原因として、胃内での溶出後に小腸への移行に伴う pH 上昇で析出する弱塩基性有効成分の、クロスオーバー試験時の胃排出タイミングの差異を原因としたバイオアベラビリティの個人内差を特定した。弱塩基性医薬品で想定される溶出・析出挙動の評価法として、試験液の pH を連続的に移行させる装置を開発し、テルビナフィン等を用いた評価で妥当性を確認した。吸収挙動を同時評価できるよう関連研究で開発した溶出/吸収評価用セル (BE チェッカー) を用い、消化管内移動に対応する試験液制御とパドル回転数などの試験条件の最適化を進め、製剤間差に関する評価と変動因子解析を得た。

9) In vitro 製剤設計・動態解析の検証

消化管内移動のモデルとして胃内および消化管の部位内の環境を模した複数のベッセル間を試料が移動する装置を用いて評価し、作成したソフトウェアを用いて塩基性医薬品の挙動を解析した。有効成分 (原薬) の消化管内での溶出と再結晶挙動を評価するための顕微鏡用セルを開発し、溶媒接触型の塩交換反応による再結晶現象などを可視化した。処方設計の手段として pH 調整機能を持つ添加剤、または結晶核の形成抑制剤を持つ高分子添加剤の有用性が示唆された。医薬品の小腸内における溶出挙動をよりの確に評価するため、pH 調整機構として従来のリン酸緩衝液に代えた炭酸緩衝液での評価を行う目的で、落とし蓋方式の簡易密閉法を開発し、モデル薬物を用いた評価を行うとともに挙動のパラメータを得た。

E エンドトキシン及び制がん剤等化学物質の不活化法並びに滅菌法の開発

10) エンドトキシン及び制がん剤等化学物質の不活化法並びに滅菌法の開発

- ・オゾン過酸化水素混合ガスによる不活化法

従前の研究で常温、気相下においてオゾン過酸化水素混合ガスによるエンドトキシン不活化法を開発し国内特許取得したが、本研究班ではその実用化をめざし、気相の滅菌器について製品開発にまで至った。

また、液相中でも制がん剤の不活化を確認し、新規反応槽を開発、液相下でのエンドトキシン不活化を可能とした。

- ・短波長紫外線による不活化法

気相において短波長紫外線 (172 nm) による樹脂に対するエンドトキシン不活化法を開発し、国内・国際特許出願した。樹脂の細胞毒性について検討したところ、照射前後で顕著な差は観察されなかった。さらに、液相で試験を行い、3-log 以上不活化されエンドトキシン不活化法の開発に成功した。

II 次世代バイオ医薬品の効率的実用化推進のための品質評価法の開発と標準化に関する研究

A 注射剤の不溶性微粒子試験法の標準化とタンパク質凝集体試験法の評価と標準化

11)–12) バイオ医薬品の凝集体／不溶性微粒子試験法

- ・不溶性微粒子試験の低容量化

光遮蔽 (L0) 法について、標準粒子を使った試験液量の低容量化に関する多機関共同測定を実施し、試験容量を現行の 5 mL から 1 mL に減らしても真度・精度の変化は妥当な範囲内であることを明らかにした (Harazono A, Biologicals 2019)。得られた研究成果は、第十七改正日本薬局方第二追補 6.17 タンパク質医薬品注射剤の不溶性微粒子試験法に反映した。

- ・フローイメージング (FI) 法の分析性能評価

モデル凝集体試料を使った多機関共同測定を実施し、従来法である L0 法と、タンパク質凝集体／不溶性微粒子の評価法として注目されている FI 法の比較、FI 装置のメーカー間 (装置間) 及び機関間の比較を行った。その結果、同じ機種を使った機関間では同様の測定値が得られること、L0 と FI の比較では、特に透明度が高く不定形な粒子は L0 では検出されないか小さく検出されること、L0 と FI の精度に大きな違いはないことを明らかにした (Kiyoshi M, J Pharm Sci 2018)。さらに、FI 法を使って、近年増加しているプレフィルドシリンジ製剤に含まれるシリコーン油滴と、タンパク質由来の粒子を区別する手法について共同研究を行い、機械学習で構築したモデルの方がより高い分類精度が得られること、機械学習のうちニューラルネットワークを使った検討では、顕著なラボ間差や装置間差は認められず有用な手法であることを示した (論文投稿中)。これらの研究成果に基づいて、FI 法によるタンパク質凝集体及び不溶性微粒子の評価法について記載した参考情報案を作成した。

- ・その他の不溶性微粒子評価法

レーザー回折、共振式質量測定法、動的光散乱法、超遠心分析及びサイズ排除クロマトグラフィーの共同測定を実施し、分析性能の評価、分析法開発時及び測定時の留意点を整理した (サイズ排除クロマトグラフィーの共同測定結果について論文投稿中)。

B 糖鎖試験法の開発、評価と標準化

13) バイオ医薬品の糖鎖試験法

- ・N 型糖鎖試験法の標準化及び日局 N 型糖鎖試験法の分析手順に関する参考情報案作成

N-結合型糖鎖試験法の種々の分析手順に関して最適化を行い、汎用的に利用可能な複数の糖鎖試験分析手順を作成した。これを元に、日局参考情報案を作成した。得られる糖鎖プロファイルに及ぼす種々の試料調製条件の影響について検討し、分析手順を作成する際に考慮すべき事項を明確化した。

- ・O-結合型糖鎖分析法の検討及び O-結合型糖鎖の分析手順の作成

複数の O-結合型糖鎖の遊離法を比較し、超塩基を用いる手法が遊離効率及び副反応の低さの点で有用であること、多機関共同測定によりプロファイルの再現性が高いことを確認し、分析手順を作成した。

C 宿主細胞由来タンパク質 (HCP) 試験法の評価と標準化

14) バイオ医薬品の宿主細胞由来タンパク質試験法

- ・ HCP-ELISAの重要試薬

HCP-ELISAの重要試薬である抗HCP抗体の適格性評価手法として、二次元電気泳動法とウェスタンブロット法を用いる際の技術的要件と留意点を明らかにした。

- ・ HCP-ELISAに関する技術要件

HCP-ELISAを用いた標準的なHCP試験法とバリデーションの技術的要件と留意点を明らかにした。またこれらの成果を踏まえ、日局HCP試験法原案を作成し、参考情報「宿主細胞由来タンパク質試験法」が第17改正日本薬局方第二追補に収載された。

- ・ LC/MSを用いたHCP試験法の試料調製条件の最適化

LC/MSを用いたHCP試験法の試料調製条件を検討し、感度を向上させる条件を明らかにした。

- ・ LC/MSを用いたHCP試験法の試験成立条件の確立

LC/MSを用いたHCP試験法における試験成立条件として、サンプル適合性の設定方法を提案し、模擬的な測定を実施し、有用性を検証した。

D バイオアッセイ試験法の標準化とバイオ医薬品分析法 QbD における技術指針の確立

15) バイオ医薬品研究総括、及びバイオアッセイ/分析法 QbD

- ・ 試験成立条件設定法の検討

参加機関から提供されたバイオアッセイのデータを用いて、標準物質と試料の用量反応曲線の平行性を評価する方法について検討し、分散分析を用いる方法と同等性許容域を設定する方法の特徴を明らかにした。

- ・ 日局参考情報及び一般試験法の作成

試験成立条件に関する検討結果や欧米薬局方の記載等をもとに、バイオアッセイにおける標準的な技術要件をまとめ、日局バイオアッセイ参考情報案と重要事項のみを抽出した一般試験法案を作成した。

- ・ 分析法 QbD における技術指針の確立

細胞応答性試験およびサイズ排除クロマトグラフィーを例に、分析法目標プロファイルの設定、操作パラメータの抽出とリスクアセスメント、管理戦略について検討し、技術指針となる事例を作成した。

E アレルゲンの品質管理と力価試験法の標準化

16) アレルゲンの力価評価

- ・ アレルゲン特異的血清パネルの作成と評価系の確立

アレルギー患者血清パネルおよび免疫したマウス血清パネルを作成した。これを用いて、培養細胞のルシフェラーゼ活性を指標とするアレルゲン力価評価法を確立した。

- ・ ロット間比較試験

スギ花粉アレルゲンエキス標準品や市販エキス等の力価を、開発した評価法と指標成分 (Cry j 1) の定量に基づく従来法とで比較し、良好な直線性 ($R^2=0.99$) を確認した。

- ・ 長期保存試験

アレルゲンを -80°C 、 -30°C 、 4°C で長期間保管し、患者プール血清を用いて IgE 架橋活性の残存性を調べたところ、 -30°C からアレルゲン活性は漸次低下したため、保存温度は -80°C が望ましいと考えられた。

- ・ 技術的指針案作成

USP1033 等を参考にバリデーションを行い、平行性・直線性・真度・再現性が良好であることを確認し、技術指針案を作成した。

Ⅲ天然物医薬品の実用化推進に資する標準化及び品質評価技術基盤の開発

A 配合生薬エキス製剤の実用化推進に資する品質評価技術基盤の開発研究

17) 配合生薬エキス製剤の実用化推進に資する品質評価技術基盤の開発研究

・配合生薬製剤の理化学試験法案の策定として、既承認情報を基に 10 種類の生薬からなるトウキセンキュウ製剤のモデルエキス試料を考案作製し、それぞれの配合生薬を対象とした TLC 確認試験法及び HPLC 定量法を検討した。

・配合生薬製剤の理化学試験のバリデーション試験の実施として、4 機関でのバリデーションを経て品質評価法を確立した。

・承認基準原案の策定として、トウキセンキュウ製剤の開発に資する承認基準原案を最終化した。

B 単味生薬エキス製剤の実用化推進に資する標準化及び品質評価法の開発研究

18) 単味生薬エキス製剤の実用化推進に資する標準化及び品質評価法の開発研究

本研究では、単味生薬エキスの公定書収載レベルの規格化（標準化）のための品質評価法の検討を行うとともに、バリデーション試験を実施した。また、作成した原案は、日本薬局方外生薬規格（局外生規）に反映された。

1. 日本薬局方外生薬規格（局外生規）による標準化に向けて、品質評価法原案作成済み 7 品目の定量法原案のバリデーションを実施した。

2. 品質評価法原案を作成した生薬及び単味生薬エキス 4 品目（イカリソウエキス、チョウトウコウエキス、ショウキョウエキス、ロクジョウ）の規格案が局外生規 2018 検討会にて承認され、平成 30 年 12 月 14 日発出の局外生規 2018 に収載された（厚生労働省医薬・生活衛生局医薬品審査管理課長通知。薬生薬審発 1214 第 1 号）。

3. 新たに局外生規収載候補とした 8 品目の品質評価法原案作成の検討を開始し、品質評価法原案を作成した（達成率 100%）。検討中である残りの品目（ニクジュヨウエキス等）の品質評価法の原案もほぼ作成した。

4. さらに定量法の原案に沿ったバリデーションを実施し、その実証性を確認した。

5. 原案を作成した品目のうち、6 品目（ニンジンエキス、コウジンエキス、チンピエキス、オンジエキス、サイコエキス、シャクヤクエキス）について原案での追試験を実施し、規格値を設定した。さらに規格案は局外生規 2022 検討会にて承認され、局外生規 2022 に収載された。

C 漢方エキス製剤の実用化促進のための安全性・有効性を担保する品質評価技術に関する研究

19) 漢方エキス製剤の実用化促進のための安全性・有効性を担保する品質評価技術に関する研究

エフェドリンアルカロイド除去麻黄エキス(EFE) をモデルとして、新規の生薬エキス製剤や漢方エキス製剤の品質評価法の開発を目的として、以下の研究を行った。①抗がん剤誘発アロデニアモデルマウスを作製し、抗がん剤で誘発される末梢神経障害性疼痛を von Frey 試験及び Hot-Cold 試験で評価する方法を確立した。麻黄エキス及びEFEを経口投与し評価した結果、麻黄エキス及びEFEともに抗がん剤で誘発される末梢神経障害の発症予防効果や末梢神経障害性疼痛の緩和作用があることが明らかになった。②これまでの研究から、EFEに含まれる量の高分子縮合型タンニン (Ephedra Herb Macromolecule Condensed-Tannin: EMCT) はEFEと同程度の鎮痛作用を有することが分かっており、EFEの活性成分はEMCTであろうと考えている。経口投与したEMCTが分解されずに吸収されていることを証明するために、血中のEMCTの検出法を検討した。EMCTはMSなどの機器分析において低感度であるため、その定量は困難である。そこで、ヒト血清アルブミン(HSA)にEFEのEMCTを結合させ、SDS-PAGE, Native PAGE 電気泳動およびWestern blot 法により検出する方法を検討している。③種々のロットの麻黄から麻黄エキスを作製し、これまで見出してきた低分子の指標成分と活性成分 EMCT の定量を行い、EMCT 含量と相関する指標成分は vicenin-2 であることが分かった。vicenin-2 の基準値を設定することで、EFE の原料生薬・麻黄の規格化ができる可能性がある。④EFE 配合漢方エキスのモデルとして解析が容易な構成生薬

の少ない麻杏薏甘湯を選択した。麻杏薏甘湯から麻黄を除いた杏仁、薏苡仁、甘草にEFEを配合して煎じたエキスの鎮痛作用をComplete Freund's Adjuvant (CFA)誘発関節炎モデルマウスを用いて評価した結果、鎮痛作用が減弱したことから、生薬とEFEを一緒に煎じる際に工夫が必要であることが分かった。さらに、¹H-NMRメタボリックプロファイリングを用いたEFE配合漢方薬の成分分析法を開発した。

なおR2年AMED「新興再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業」に採択され、EFEをCOVID-19治療薬として開発するため医師主導治験を開始した。本研究班で見出してきた活性成分EMCTや指標成分vicenin-2を治験薬EFE製剤の品質評価に応用した。現在、安全性試験(Phase I)は終了し、有効性試験(Phase II)を実施中で、研究事業は継続中である。

D 原料生薬の遺伝子解析を利用した品質標準化と理化学試験に関する研究

20) 原料生薬の遺伝子解析を利用した品質標準化と理化学試験に関する研究

公定書既収載及び収載候補生薬の品質標準化を目的に、塩基配列解析による基原種鑑別を行うとともに、必要に応じて成分分析、理化学試験法開発を行った。

1. 遺伝子塩基配列解析による基原種鑑別

カノコソウ、ケイヒ、センコツ、ソウハクヒ、テンモンドウ、トウガラシ、モクツウ(以上、日局収載品目)、ハンピ、ロクジョウ、アルニカ、コツサイホ、ジンギョウ、トシシ、ソウジシ(以上、日本薬局方外生薬規格収載候補品目)について、塩基配列解析を行い、基原種を特定した。

2. 遺伝子情報を利用した純度試験法のバリデーション試験の実施

テンナンショウのピネリア・ペダチセクタに対する純度試験法、ロクジョウのトナカイに対する純度試験法を作成し、3-5機関によるバリデーション試験を実施し、前者について頑健性の高い試験法であることを確認した。

後者は、検討課題が認められたため、試験法を再検討した。前者は、日本薬局方外生薬規格技術情報(薬事日報社)に収載されている。

3. 公定書原案の策定

センコツ、モクツウについて、日局医薬品各条中の基原植物の改正提案を行うとともに、センコツのTLC確認試験法を作成した。ジョテイシ、ハンピ、ロクジョウ(末)、アルニカ、コツサイホ、ジンギョウ、ソウジシについて、日本薬局方外生薬規格の原案作成に際して、基原種情報を提供するとともに、TLC確認試験法、純度試験法の改正、作成など、収載原案全体の作成に寄与した。

日本薬局方外生薬規格2018(平成30年12月14日、厚生労働省医薬・生活衛生局医薬品審査管理課長通知。薬生薬審発1214第1号)。

日本薬局方外生薬規格2022(令和4年3月8日、厚生労働省医薬・生活衛生局医薬品審査管理課長通知。薬生薬審発0308第1号)。

As pharmaceuticals are produced under regulatory frameworks, regulatory technical requirements during all developmental phases from the initial stage to commercialization, should be clarified to efficiently develop new-generation pharmaceuticals. In addition, it is necessary to develop technical bases for quality evaluation, such as standardized methods utilized in the approval process and approval criteria for quality control in response to the tailored attributes of next-generation pharmaceuticals.

The final objectives of this project were to expedite the approval process for next-generation pharmaceuticals and aid in their commercialization. The organization comprised members of government institutes engaged in studies examining the evaluation methods and technical requirements of the approval process, corporate researchers with significant experience in product development, and academics engaged in basic studies analyzing new technologies. This governmental-industrial-academic cooperative research was aimed at developing quality evaluation methods for next generation pharmaceuticals by utilizing novel scientific data, considering the drug approval process, and presenting them as official notices, guidelines or official methods described in the Japanese Pharmacopoeia (JP).

Specifically, three research groups were included, namely, the drug product group (group I: development and standardization of quality evaluation methods for pharmaceuticals considering their manufacturing process and formulations), the advanced biologics group (group II: development and standardization of methods to evaluate the quality of innovative biopharmaceuticals for facilitating product development) and the herbal medicines group (group III: standardization and foundation development of quality evaluation techniques to promote effective utilization of natural-product-derived medicines). From 2017 to 2022, the groups I, II and III conducted five, five, and four studies, respectively. The following studies were conducted by group I: standardization of the evaluation method for the quality of advanced drug delivery system products (I-A), standardization of innovative and advanced analytical techniques for pharmaceutical development, manufacturing process control and quality evaluation (I-B), standardized evaluation methods to predict long-term physical stability of amorphous pharmaceuticals in short term (I-C), *in silico* pharmacokinetics studies for rational design of bioequivalent formulations (I-D), and reduction methods of bacterial endotoxins and chemicals, such as anticancer agents, in liquid phase, and sterilization methods (I-E); The following studies were conducted by group II: standardization of test methods for insoluble particulate matters in injections and evaluation of several methods examining protein aggregates in therapeutic protein injections (II-A), development, evaluation, and standardization of glycosylation analysis (II-B), evaluation and standardization of host cell proteins assay (II-C), standardization of bioassay and establishment of points to consider for analytical QbD of biopharmaceuticals (II-D), and standardization of *in vitro* evaluation methods for defining the quality and potency of allergens (II-E). The following studies were conducted by group III: standardization and development of quality evaluation methods to promote effective utilization of single crude drug extract products (III-A), quality evaluation techniques to promote effective utilization of combination crude drug extract products (III-B), quality evaluation techniques ensuring the safety and efficacy of Kampo extract products to promote their effective utilization (III-C), and quality standardization of crude drugs for preparations based on gene analyses and their physicochemical examination (III-D).

The official deliverables by our studies are listed as follows: in the JP or the general information of JP, “Circular Dichroism Spectroscopy” (JP18-1), “Insoluble Particulate Matter Test for Therapeutic Protein Injections”(JP17-2), “Host Cell Protein Assay”(JP17-2), “Basic Concept of the Quality Control on Biotechnological Products (Biopharmaceuticals)” (JP18), “Purity test of Saposhnikovia Root and Rhizome for *Peucedanum ledebourielloides* in Purity Tests on Crude Drugs using Genetic Information” (JP17-2), and revisions of several monographs of crude drugs; “the biowaiver guideline based on Biopharmaceutics Classification System” issued as the notification No.1225-13 in 2020 by the Director of Evaluation and Licensing Division, Pharmaceutical Safety and Environmental Health Bureau, MHLW; several monographs adopted or revised in Non-JP crude drug standards 2018 or 2022. In addition, as a result of this project, the groups I, II and III published 84, 48 and 29 reports, respectively, and a total of 12 patent applications were made.