

# 日本医療研究開発機構 医薬品等規制調和・評価研究事業 事後評価報告書



## I 基本情報

研究開発課題名： (日本語) 医薬品の品質確保のための日本薬局方改正に向けた試験法等開発に関する研究  
(英語) Research on development of test methods and setting specification in Japanese Pharmacopeia to assure quality of pharmaceutical products

研究開発実施期間：平成31年4月1日～令和4年3月31日

研究開発代表者 氏名：(日本語) 伊豆津 健一  
(英語) Ken-ichi Izutsu

研究開発代表者 所属機関・部署・役職：  
(日本語) 国立医薬品食品衛生研究所 薬品部 部長  
(英語) Director, Drug Division, National Institute of Health Sciences

## II 研究開発の概要

研究開発の成果およびその意義等

国内における医薬品の品質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る日本薬局方の試験法は、既承認医薬品の出荷や流通における品質の確認とともに、新医薬品の開発等において妥当性が確認された標準的な試験法として用いることによる、開発の効率化と審査の信頼性向上の役割を担う。タンパク質や核酸など新モダリティの有効成分や、新規DDS（ドラッグデリバリーシステム）を用いた新医薬品の増加や、医療から求められる品質水準の上昇に対応するため、薬局方の試験法にも新たな分析法やデータ解析など新技術の導入が強く求められており、厚生労働省の「日本薬局方作成基本方針（第18局，第19局）」においても「最新の学問・技術の積極的導入による質的向上」が作成方針の重要な柱となっている。本研究は日本薬局方の一般試験法や参考情報，医薬品各条，生薬各条で用いられる試験の設定に必要な科学的根拠の取得を進める事を目的として，化学薬品領域，理化学試験法領域，生薬領域，微生物領域，添加物領域，製剤領域，生物薬品領域の専門家が原案検討委員会との連携のもと，薬局方への収載または改正が検討されている試験法を主な対象とした検討を行った。対象には日米欧での薬局方試験法の調和（PDG）作業に必要な技術面の検討と検証も含まれる。日本薬局方は5年毎の大改正と，その間2回追補発

行が行われる。そのため本研究の成果は各領域での原案検討を経て、第 18 改正日本薬局方（2021 年 6 月）と同第 1 追補（2023 年予定）における新規試験法や参考情報および医薬品各条への収載または収載予定となる。

製剤領域では点鼻剤の規格及び試験法について承認書の規定を整理し、承認時期や医療用・一般用医薬品間で開発過程における送達量に関する検討状況、および噴霧量規定の設定状況の差異を考慮した評価法案を作成した。また注射剤用バイアル及びアンプル容器について、製剤の国際流通増加を背景とした USP クラス 1 に相当する規格の追加案について、試料作成方法の改善等の検討を行った。生物製品関連ではフローサイトメトリー法を対象に、米国薬局方 (USP<1027>), 欧州薬局方 (EP 2.7.24) の項立て、及び、記載内容について調査し、抗体医薬品等の生物製品の品質評価に用いられる手法（抗原結合活性、細胞応答の評価等）について整理した。さらにまた装置と測定の実原理、データ解析、測定時の留意事項、及び、生物製品の試験における使用例について記載した参考情報案を作成した。

化学薬品の各条に関する領域では、試験実施時の作業者の安全確保と環境負荷の低減を目的として検討を行った。各条試験のうち TLC を用いた試験法で高リスクのクラス 1 およびクラス 2 の溶媒が使用されている数品目において、クラス 3 溶媒の組み合わせを検討することで代替を実施した。また 2 品目（アドレナリン液、アドレナリン注射液）の旋光度測定による定量法についてもクラス 3 溶媒への代替法を示した。ロラゼパムに関する検討では、類縁物質を化学合成し、純度を  $^1\text{H-NMR}$  により求め (88~99%), HPLC 上での各類縁物質の分離条件を検討し、各化合物の一斉分析による完全分離を達成できた。また、同分析条件はロラゼパム製剤の分析においても適用可能であることを明らかとした。

理化学試験に関する研究として、医薬品の合理的な根拠に基づく製品開発と効率的な管理に資することを目的とした原子間力顕微鏡法と近赤外分光法の検討を行った。原子間力顕微鏡については、装置（AFM 本体とその他の装置）、測定（測定試料の調製、ナノ粒子を固定するための基板の準備、ナノ粒子の固体基板への固定化、AFM 画像の取得）、画像解析とナノ粒子のサイズ（高さ）計測（断面形状解析によるサイズ測定、自動粒子解析によるサイズ測定、真球以外の形状を有するナノ粒子の解析、サイズデータの報告）、AFM の性能確認について調査・検討し、結果への影響が大きい基板への試料の固定化を重視した測定準備を含める形で参考情報素案に記載した。近赤外吸収スペクトル測定法については第 2 年度までに一般試験法案を作成するとともに、医薬品各条記載例の作成の必要性について、工程管理での利用とともに、一般的な医薬品各条での試験方法としての記載の必要性について検討を行った。

生薬各条としてシンキクを局方収載するための検討として、次世代シークエンサーによる菌叢解析を行った結果、シンキク市場品には、共通して *Aspergillus* sp, *Rhizopus* sp. といった醸造微生物が検出されたが、産地により微生物叢に大きな違いが見られ、それらが消化酵素活性に影響していることが示唆された。そこで *Aspergillus oryzae*, *Rhizopus oryzae* を用いてシンキクを製造し、発酵に寄与する微生物の違いが酵素活性に与える影響を調べた。その結果、*A. oryzae* により製造したシンキクはアミラーゼ及びリパーゼ活性が高く、*R. oryzae* により製造したシンキクはプロテアーゼ活性が高いという特徴が見られた。また発酵後の乾燥方法（天日と加熱）が酵素活性に与える影響を検討し、発酵後の加熱処理がシンキクの品質に大きく影響することが明らかになった。さらに「生薬の性状」の項に記載されている生薬の外部形態及び内部形態について見直しを行い、記載内容に問題があった 30 品目について、文献調査及び実測データの取得を行い、このうちの 13 品目について、日局改正提案を行った。

微生物関連では代替無菌試験法について、国内外における利用状況を調査するとともに、日局 17 参考情報 マイコプラズマ否定試験の参照菌株 7 種を用いて培養法フィルターチャレンジ試験を行い、指標菌利用可能な菌株を選択した。日本薬局方の各種微生物学的試験法は、菌塊や死菌を含まず、分散した生菌からなる標準菌株の調製が望まれる。またガラススライドどカバーガラスで作製したマイクロ流路と蛍光顕微鏡で生菌の分散性評価から、これら手法の有用性を確認した。凝集している *Acholeplasma laidlawii* NBRC 14400

菌体を 1  $\mu\text{m}$  フィルターシステムを用い、菌塊が解離した良好な参照品の調製法を確立した。一般試験法の 4.05 微生物限度試験法及び 4.06 無菌試験法並びに参考情報の保存効力試験法<G4-3-170>、消毒法及び除染法<G4-9-170>及び製薬用水の品質管理<GZ-2-172>に用いられる標準菌株 *Staphylococcus aureus* NBRC 13276 の調製を行なった。

医薬品添加剤の機能関連特性 (FRC) に関する日本薬局方での適切な設定と国際調和に向けた検討として、海外薬局方及び国際調和における扱いを調査・整理するとともに、作成した初期案について関係者の意見を収集した。また日米欧三薬局方調和検討会議において調和が提案された品目のうち「アルファー化デンプン」を対象に、設定が検討されている項目（鏡検、水可溶分、保水量、膨潤度）の試験を行うことにより、技術的な課題の把握と国内流通する添加剤への適合性の検討を進め、参考情報として妥当であるとの結果を得た。

定量 NMR (qNMR) 法を用いた化学医薬品における局方標準品の純度値付けを行うための絶対定量法の導入について、吸湿の影響を制御する方法について検討するとともに、構造が複雑、精製が困難などの特性を持つ医薬品等の適切な標準品設定を目的に  $^{31}\text{P}$  (リン) qNMR 法など多核測定の利用を検討した。吸湿の影響を抑制する方法として恒温恒湿装置の有用性が示された。また多核測定の利用に関しては、新たな技術活用としての有用性が示唆されたことから機器の拡充と研究体制の強化を図り、薬局方収載有機リン化合物であるオーラノフィン及びソフォスブビルを用いた、 $^{31}\text{P}$ -qNMR による絶対定量、および  $^1\text{H}$ -qNMR との絶対定量値との比較から、定量法としての優れた特性を確認した。

The purpose of this research was to ensure the quality of approved drugs and promote the of new drugs by conducting technical studies necessary to edit new general tests in the Japanese Pharmacopoeia. The research was conducted in the fields of chemicals, physicochemical tests, crude drugs, additives, pharmaceuticals, and biopharmaceuticals in collaboration with the draft review of the Pharmacopoeia. The Japanese Pharmacopoeia is scheduled to undergo a major revision every five years and two supplementary issues during that period. Therefore, the results of this study was listed and will be listed in the 18th revised Japanese Pharmacopoeia (June 2021) and the 1st supplement (scheduled for 2023) as general tests, general information, and monographs.

Regarding methods to test uniformity of delivered dose of nasal sprays, drafts were prepared taking the different approval conditions of medical and over-the-counter drug products. General test and specifications of glass vials corresponding to class 1 vials in USP was prepared, to meet international distribution of pharmaceuticals. Regarding biopharmaceuticals, draft reference information on flow cytometry was prepared through studies mainly focusing on their application to evaluate quality of antibody drugs (antigen binding activity, evaluation of cell response, etc.). Some test methods to identify and assay chemical pharmaceuticals (APIs, products) were studied to ensure safety and to reduce environmental load during the tests. Some Class 1 and Class 2 solvents used in TLC and other test methods were successfully substituted to class 3 solvents.

Draft general information using atomic force microscopes (AFM) was prepared, focusing on the equipment, measurement methods, and sample preparation. Methods for near-infrared spectroscopy was also studied for possible future revisions. As a study to list Shinkiku as JP monograph, analysis of bacterial flora was performed using a next-generation sequencer. The products showed different types of bacteria and varied stability of enzyme activity. External and internal forms of crude drugs described in the "Characteristics" section were studied for revision proposals. The usefulness of the alternative sterility test method was confirmed by evaluating the dispersibility of viable bacteria using a microchannel made of glass slides and cover glass and a fluorescence microscope. Function-related characteristics (FRC) of pharmaceutical additives were studied for their addition in Japanese Pharmacopoeia. Physical characters of pregelatinized starch were studied to clarify technical issues to set specifications. Application of quantitative NMR (qNMR) method in pharmacopoeia was studied focusing on control of water content during the test and multi-nuclear measurement. Analysis of auranofin and sofosbuvir by  $^{31}\text{P}$ -qNMR and  $^1\text{H}$ -qNMR showed appropriateness and relevance of the methods.