

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

公開

I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) 医薬品の品質水準の効率的確保に向けた日本薬局方の新規試験法と国際調和の検討

(英語) Research on New Testing Methods in the Japanese Pharmacopoeia for Efficient Quality Assurance and International Harmonization

研究開発実施期間: 令和 4 年 4 月 1 日～令和 7 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) 学校法人国際医療福祉大学 成田薬学部 教授

(英語) Professor, School of Pharmacy, International University of Health and Welfare

II 研究開発の概要

本研究では日本薬局方の試験法への新技術の取入れなどについて、一般試験法の構成に合わせた 7 領域に分かれた検討した。製剤関連領域では、まずリポソームや脂質ナノ粒子など懸濁型の高機能製剤の品質確保に用いられる微粒子測定法について、懸濁型の注射剤に適用可能な表記への改善点を整理した。また注射剤に意図せず混入・生成する微粒子の試験法について、一般とタンパク質医薬品の試験法を統合するための検討を進め、国際調和に活用した。高分子製剤での新規の相分離評価法を検討・報告した。注射剤用ガラス容器からのアルカリ溶出等について、高品質製剤を中心に世界標準とされる USP クラス 1 に相当する基準の日本薬局方における追加設定の方法と課題を検討し、試験法案に用いた。広範な医薬品不足の原因となった製剤の製造管理の改善に向けた、JP の試験法の役割と柔軟性確保について検討するとともに、医薬品の供給障害との関係を総説として報告した。無菌医薬品の包装完全性評価法の向上に向けて、微生物チャレンジ試験について専門学会の協力を得て調査し、薬局方参考情報の改定に進めた。

理化学試験法に関する領域では、日本薬局方に収載可能な設定に必要な科学的根拠を示すとともに、最新の技術と知見を積極的に導入し、研究成果を日本薬局方へ反映させることにより、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て検討を行った。具体的には、ICHQ3D の導入に伴う理化学試験の整備は、元素不純物管理を普及させるために重要であることから、その方法の 1 つで日本薬局方に未収載である蛍光 X 線の試験法を策定するための研究を行った。また、医薬品品質管理手法として汎用されている液体クロマトグラフィー（HPLC）用カラムが多様化しているため、測定対象物の分離性能へ与える影響について検討した。さらに、蛍光 X 線の原理をはじめとする特徴、用途、試料調製法、医薬品分析への応用について、最新情報をふまえ記載内容を精査し蛍光 X 線試験法の素案を作成した。作成した素案を日本薬局方原案検討委員会へ提出した。試験法名等について、日本産業規格 JIS で用いられている用語を参照した。試料調製法や測定に用いる容器、高分子フィルムの要件を検討した。欧米薬局方を参考として装置性能の管理項目と許容範囲に関して、定量法、純度試験法など試験の目的に応じた記載内容を精査した。試験法の記載例作成について検討し、今後より試験法が普及し事例の積み重ねを踏まえたうえで、さらに検討することとした。

微生物試験法領域では国際調和を目指し、海外薬局方の試験法を日本薬局方に導入する研究を行った。発熱性物質は血中で発熱やショックを引き起こす物質の総称で、エンドトキシン（グラム陰性菌のリポ多糖）と、非エンドトキシン性物質（グラム陽性菌の死菌、ウイルス RNA など）に分類される。注射剤中の発熱性物質は、日本薬局方の試験法により厳密に管理されている。近年では、PBMC などの培養細胞と検体を混合し、炎症性サイトカイン量を測定する単球活性化試験法（MAT 法）が注目されている。欧州薬局方に収載されている MAT 法を日本薬局方に導入するため、試験系の構築と陽性対照の検討を行った。令和 4 年度は、日本赤十字社の献血から PBMC を分離し、標準品を良好に検出可能な MAT 試験系を構築した。令和 5 年度は、黄色ブドウ球菌（HKSA）の菌体分散法と蛍光顕微鏡による分散度評価法を確立。分散度は検出感度に影響しないが、用量反応に差が生じ、確認の重要性が示唆された。令和 6 年度には、Poly(I:C) を陽性対照として評価したが、製品にエンドトキシンが混入しており試験に影響を与えた。さらに、反応性にも製品間で差があり、エンドトキシン陰性であることと反応性の事前確認の必要性が示された。

定量 NMR 法（qNMR）の医薬品評価における活用について、日本薬局方における化学医薬品の標準品の純度値付けのための絶対定量法としての有用性を検討した。測定法として、従来の ^1H -qNMR 法では構造や不純物を原因としたシグナル重複による定量困難を回避するため、シグナルが比較的単純化しやすい ^{31}P および ^{19}F -qNMR 法の適用可能性を用いた。 ^{31}P -qNMR については、リンを含む医薬品ブリグチニブをモデルに、10 機関との共同試験を実施した結果、 ^1H -qNMR とほぼ一致する良好な定量値が得られた。 ^{19}F -qNMR については、4 種の有機フッ素化合物およびトリフルオロ酢酸をモデルとし、9 機関との共同検定により、 ^1H -qNMR やイオンクロマトグラフィーと整合する定量結果が得られた。また、相対定量法に用いる標準物質の評価法としても qNMR を検討した、標準物質を用いた相対法よりも qNMR を直接用いる方が有用であると判断された。さらに、 ^1H -qNMR 法によってアスコルビン酸注射液中の主薬定量を行い、HPLC 法との一致が確認された。従来の滴定法では添加剤の影響を受けやすいため、qNMR はその代替法となり得る。結果を、吸湿性の高い標準品について、調湿条件下での測定を標準化する案として薬局方の原案作成委員会に提案した。

化学薬品の試験法検討では、日本薬局方（JP）の国際整合性の一層の推進を目的として 2 つの研究を実施した。①JP において電位差滴定法が採用されている一方で、米国薬局方（USP）や欧州薬局方（EP）においては HPLC 法が設定されている医薬品を対象とし、他局との整合性を図るための HPLC 法への移行可能性を検

討した。令和4年度は、ダントロレンナトリウムを対象として、類縁物質の合成、定量NMRによる不純物の純度評価、およびHPLC分析条件の最適化を実施した。令和5年度は、グリクラジドを対象とし、EP記載の分析条件を参考に、合成した類縁物質の完全分離をHPLC上で達成した。令和6年度には、ナファゾリン塩酸塩およびアロプリノールを対象とし、USP記載法を参照したHPLC条件の設定により、各類縁物質を一斉に分離可能であることを確認した。これらの成果は、JPの試験法を国際的基準に適合させる上で有用な知見となる。さらに、②ペプチド医薬品や核酸医薬品など多様な医薬品モダリティに対応可能な分析法の開発を目的として、円二色性(CD)スペクトル法を用いた立体構造解析における試薬および溶媒の使用量削減について検討を行った。令和4年度は、ペプチド医薬品4品目を対象とし、マイクロサンプリングによるCD測定を試みた結果、比較的分子量が小さくランダム構造をとるペプチドでは十分なスペクトルが得られない可能性が示唆された一方で、インスリンなどの高分子では通常の測定と同等の結果が得られた。令和5年度は、核酸医薬品5品目を対象とし、アンチセンス核酸単独でのCDスペクトル測定において、マイクロサンプリングディスクではスペクトルの取得が困難であることが判明した。また、セルの構造特性に起因する信号の誤差も確認された。令和6年度には、天然物由来の構造を有する医薬品3品目(プラバスタチン、ロスバスタチン、エリブリンメシル酸塩)について同様の検討を行い、プラバスタチンでは低濃度で十分なCDスペクトルが得られたが、その他の2品目では高濃度での測定が必要であることが示された。以上の結果は、日本薬局方における分析法の国際整合性強化と、多様化する医薬品に対応した持続可能な試験法開発の基盤となるものであり、今後のJP改訂および国際的調和に資する重要な成果である。

生薬分野における品質確保と日米欧での試験法の国際調和を念頭に、日局生薬試験法と生薬各条の試験法の改正に向けた検討を実施した。生薬試験法では、灰分の試験法における灰化温度の違いに着目し、3年間を通じて検討を重ねた。日局の500～550℃では灰化に難があるとされる19品目21検体について、欧州薬局方に倣い600℃で灰化した場合の炭及び灰の様子と灰分値を調査した。その結果、特に、果実・種子に由来する生薬では、灰化温度を上げるにより灰化が速やかに進み、試験時間の大幅な短縮が期待できることを明かにした。一方で、灰化温度の変更によって灰分の規格値も大きな影響を受けることから、生薬各条全品目の灰分値の見直しが必要になり、灰化温度の調和は現実的ではないと判断した。最終的には、生薬各条で灰分の灰化温度の変更が望まれる品目を調査し、各条の改正要望として取りまとめた。生薬各条の試験法では、まず、欧米の伝統医学に由来する西洋生薬に着目し、日米欧薬局方における確認試験及び定量法の比較表を作成して、国際調和の可能性がある生薬各条の試験法を選出した。このうち、北米由来の生薬セネガ及びセネガ末の確認試験では、欧州薬局方の試験法を参考に、現行の日局の起泡試験と呈色試験をTLCに改正するための試験法案を2パターン作成した。三機関でのバリデーション試験を経て、最終的に、最終的にフラバノール配糖体の蛍光を検出する試験法を日局原案検討委員会に上程した。さらに、欧州伝統薬として知られる生薬ゲンチアナについて、昇華試験の確認成分がゲンチアナ特異的な化合物ではないことを明かにした。最終的に、現行のTLC確認試験を改正する形で、2成分を同時検出する試験法案を作成し、業界団体によるバリデーション試験に至った。

添加物関連では医薬品粉体原料の流動性は製造工程の頑健性や有効成分の均一性に関連するため、管理すべき重要な因子の検討を行った。動的な流動性測定法の一つであるせん断セル法では、製造設備の設計に有用なせん断付着力、動摩擦角、フローファンクションなどの各種パラメータが得られる。製剤分野においても近年広まりつつある連続生産方式では、従来のバッチ生産に比べて粉体の流動性が生産効率と品質に及ぼす影響が大きい。せん断セル法は有用な試験法と考えられるが、有機化合物である医薬品粉体を対象とした体系的な報告は多くなく、各国薬局方における国際調和も達成されていない。研究では直近の課題である、測

定条件に左右されにくい頑健な流動性パラメータの探索に関する検討を行った。その結果、複数の空隙率条件下で測定された予備せん断点を横断的に結んだ原点を通る直線（限界状態線）の勾配が、粉体の組成（単体/多成分）に関わらず、流動性の指標となり得ることを明らかにした。

This study examined the incorporation of new technologies into the Japanese Pharmacopoeia test methods, divided into seven focus areas. The study on formulation testing focused on quality evaluation methods for advanced suspension-type formulations such as liposomes and lipid nanoparticles.

Improvements in particle measurement techniques for injectable suspensions were proposed. Test methods for unintended particulates were examined to unify general and protein-specific tests, contributing to international harmonization. A new phase-separation evaluation method for polymer-based formulations was also reported. Regarding alkali leaching from glass containers, adoption of standards equivalent to USP Class I in the Japanese Pharmacopoeia was explored. The flexible role of JP testing in addressing drug shortages due to manufacturing issues was reviewed. Finally, improvements in container closure integrity testing for sterile products were investigated through microbiological challenge studies, leading to updates in JP reference information.

The purpose of this study was to provide a scientific basis for establishing physical and chemical test methods for inclusion in the Japanese Pharmacopoeia. In support of elemental impurity control under ICH Q3D, we developed a draft X-ray fluorescence spectrometry (XRF) method. The draft covered characteristics, sample preparation, and pharmaceutical applications, and was submitted to the JP Expert Committee. Sample preparation techniques, measurement containers, and polymer films were evaluated, and performance criteria were examined with reference to the EP and USP, considering test purposes such as assays or purity tests. The preparation of example descriptions was also discussed for future implementation. Additionally, the influence of diverse HPLC column specifications on analytical performance was studied. Differences in particle size, column length, and inner diameter were assessed with respect to symmetry factors and theoretical plates, referencing harmonized methods such as <2.00> Chromatography. These findings contribute to robust method development in pharmaceutical quality control.

Pyrogens, which cause fever or shock in the bloodstream, are classified into endotoxins and non-endotoxin pyrogens (NEPs). Endotoxins are lipopolysaccharides from Gram-negative bacteria, while NEPs include bacterial polypeptides, DNA, and viral RNA. The monocyte-activation test (MAT), listed in the European Pharmacopoeia, detects both pyrogens by measuring pro-inflammatory cytokine release from human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs). To support the inclusion of MAT in the Japanese Pharmacopoeia, a MAT system using PBMCs from the donated blood in Japan was developed and evaluated in this study. Preparation methods for heat-killed *Staphylococcus aureus* (HKSA), a Gram-positive bacterium, and Poly(I:C), a viral RNA mimic, were also studied as NEP controls. The results emphasized the importance of ensuring HKSA dispersion and confirming that Poly(I:C) is endotoxin-free and reactive in MAT.

The use of quantitative NMR (qNMR) as an absolute quantification method was investigated to support the assignment of purity values to chemical reference standards in the Japanese Pharmacopoeia. This study was focused evaluation of ^{31}P - and ^{19}F -qNMR methods Due to limitations of ^1H -qNMR in signal

overlap. Collaborative studies confirmed that ^{31}P -qNMR results for brigatinib and ^{19}F -qNMR results for several fluorinated compounds closely matched those of ^1H -qNMR and ion chromatography. Additionally, ^1H -qNMR was validated as a reliable method for direct quantification in formulations, as demonstrated with ascorbic acid injection. It was found to be a practical alternative to titration methods that are sensitive to excipients. The study also proposed a standardized approach for handling hygroscopic reference materials, recommending consistent humidity control during both value assignment and measurement.

Two major initiatives were undertaken to promote international harmonization of test methods for chemically synthesized pharmaceuticals. First, the feasibility of replacing potentiometric titration with HPLC methods, as used in the USP and EP, was investigated using four model drugs. Impurity synthesis and separation were successfully achieved under internationally aligned HPLC conditions. Second, the study aimed to reduce reagent and solvent use in circular dichroism (CD) spectroscopy for structural analysis of peptides, nucleic acids, and natural product-based drugs. While micro-sampling CD analysis had limitations for small peptides and nucleic acids, it produced sufficient results for larger peptides and some natural compounds. These findings contribute to the development of sustainable and globally harmonized analytical methods in the Japanese Pharmacopoeia and support future revisions.

Research on crude drugs was conducted to revise test methods in the Japanese Pharmacopoeia (JP), focusing on quality assurance and international harmonization with the U.S. and Europe. A key issue was the ash test, where 19 crude drugs difficult to ash at 500–550°C were examined at 600°C, following the European Pharmacopoeia. Faster ashing was observed, especially for fruits and seeds, but significant changes in ash values made harmonization impractical. Separately, test methods for Western-origin crude drugs were reviewed. For Senega and Senega Powder, TLC-based identification methods were proposed to replace current JP tests. In the case of Gentiana, a new TLC method detecting two specific compounds was developed, as the current sublimation test lacked specificity.

As a study on the physicochemical properties of pharmaceutical excipients, research was conducted focusing on powder flowability as a critical factor in pharmaceutical development, particularly under continuous manufacturing conditions. Among various evaluation methods, the shear cell method provides practical parameters for both formulation and equipment design. However, its use with pharmaceutical powders has been limited. This study identified the slope of the critical state line as a robust and intrinsic indicator of flowability, applicable across different powder types and packing conditions.