

都内医薬品製造所のバリデーションに対する技術支援 植物抽出液製剤（内用液剤）メーカーへの対応

瀬戸 隆子*, 浜野 朋子*, 塩田 寛子*, 上村 尚*, 大西 和夫*,
伊藤 栄利子**, 前川 智明**, 佐々木 勇夫**, 宮城 不二男**

Technical Support of Validation Process for Pharmaceutical Factory in Tokyo Herbal Infusion Factory

TAKAKO SETO*, TOMOKO HAMANO*, HIROKO SHIODA*, HISASHI KAMIMURA*, KAZUO ONISHI*,
ERIKO ITOH**, TOMOAKI MAEKAWA**, ISAO SASAKI** and HUIJIO MIYAGI**

Keywords : バリデーション validation, 植物抽出液剤 herbal infusion, 生薬製剤メーカー pharmaceutical factory of herbal medicine, 製造管理 manufacturing control, 品質管理 quality control, ムラサキオモト *Rhoeo discolor*

はじめに

昨年報告^{1,2,3)}したように、東京都衛生局薬務部は平成8年度からGMP対策事業の一環として、小規模メーカーに対する製造工程のバリデーションに関して支援を行っている。本報において、委託栽培した生の薬用植物からの抽出物を内用液剤に製剤化しているメーカーに対しバリデーション支援を行った事例を報告する。

栽培された薬用植物ムラサキオモト *Rhoeo discolor* Hanceは夏～秋にかけて収穫、抽出、ろ過して原料抽出液を製造する。10℃で保存しておき、製剤の製造に使用する。本製剤は液剤でありロット内の均一性はあまり問題がないと考えられる。しかし、原料植物は天産物であり、成分含量の変動が不可避であるが、ロット間での差をなくし、安定した品質の製剤を製造するために、今回アントシアンの濃度を指標として原料植物の変動、及び原料抽出液並びに製剤の保存中の品質変化を調べることとした。

実験の部

製造方法の概要 原料抽出液：委託栽培した生の原料植物ムラサキオモトを選別、洗浄、裁断後日本薬局方蒸留水及び安息香酸を加えて低温浸出し、75%に減圧濃縮して製する。原料抽出液は20L入り原料用ボトルに分注し次工程まで10℃で保存する。製剤：原料抽出液の原料用

ボトルの内4本を使用し、甘味料等の添加剤及び、10%の蒸留水を加えてよく混和、ろ過し、アンプルに充填後加熱滅菌して製剤とする。本工程を製造単位とし、1製剤ロットとする。

試料採取と保存 試料採取はメーカーが行い、原料抽出液は10mlのスクリュウバイアル型の試料瓶に充填、冷蔵保存したものを保冷容器に入れ当所まで運搬された。原料抽出液は製造後20Lのボトル約40本に分注保存されるため、各製造ロットとも6、10、16、20、26及び30番目の6ボトルから採取した。製剤はロットの中から任意に抜き取り、製剤製造に用いた各4本の原料用ボトルの抽出液も同時に送付された。原料抽出液は1999年の製造が開始された7月から12月までの6ロット、製剤は同じく8月から2000年3月までの13ロット採取された。搬入された試料は4℃に保存し搬入から24時間以内にアントシアニン濃度を測定した。経時変化用試料として最初のロットを当て、搬入後10℃の保冷庫内に保存し、適時アントシアニン濃度を測定した。

アントシアニン濃度の測定 メーカー自主規格法：製剤又は原料抽出液5mlを正確に量り、水5mlを正確に加えよく混和し、水をブランクとして分光光度計（photo-mech-301, 株式会社アペレ製）を用い極大吸収543nmにおける透過率を測定した。原料抽出液濃度規格：透過

* 東京都立衛生研究所理化学部医薬品研究科 169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

* The Tokyo Metropolitan Research Laboratory of Public Health
3-24-1, Hyakunincho, Shinjuku-ku, Tokyo, 169-0073 Japan

** 東京都北部薬事衛生事務所

率32%以下．製剤濃度規格：透過率10～30%．当所では自記分光光度計（UV-3100PC，島津製作所製）を使用し，極大吸収である544nmにおける透過率（吸光度）を測定した．

分光光度計の校正 第13改正日本薬局方，一般試験法12．吸光度測定法の波長及び透過率又は吸光度の校正の項により，透過率校正用光学フィルターを用いる方法及び重クロム酸カリウムの0.005mol/L硫酸溶液を用いる方法に従った．メーカー自主校正法：ニッケル標準液20ml（Ni 673 μg含有）に0.33N塩酸溶液30ml，20%酒石酸ナトリウム溶液7ml，4%過硫酸カリウム20ml，1%ジメチルグリオキシムエタノール溶液2ml，5N水酸化ナトリウム溶液5mlを加え水で全量を100mlとした．30分間放置後波長465nmの透過率を測定し，58±3%の範囲にあることを確認した．

結果及び考察

品質管理の指標成分について 本製剤は下痢，腸カタル等に有効とされるが，原料のムラサキオモトの成分としては粘液質及びアントシアンが記載されている⁴⁾のみで，有効成分の特定はされていない．一般用生薬製剤の規格設定において，配合生薬が毒劇薬に該当するもの，日本薬局方において定量法・成分含量を設定しているもの，及び薬理活性の強い成分を含有しているものなどについて定量法の設定が必要とされているが⁵⁾，本製剤はこれに該当しないので，成分定量は必ずしも必要ではない．本製剤は原料抽出液が昭和28年，製剤が昭和32年に承認されて以来製造されているいわゆる「縦書き承認」であり，規格及び試験方法は規定されていないが，メーカー

の自主規格により，性状，pH，確認試験，純度試験（重金属，砒素）（製剤のみ），蒸発残留物，アントシアン色素濃度により品質管理を行っている．そこで，今回，アントシアンの濃度により製造工程の検証を試みた．

アントシアン濃度の測定方法について メーカーは分光光度法による濃度測定を543nmにおける透過率で読み取りその値を使用している．メーカー自主規格値は原料抽出液が32%以下（吸光度として0.49以上），製剤10～30%（吸光度として0.52～1.00）の範囲である．規格としては透過率でも差し支えないかとは思われるが，透過率と濃度の関係は図1に示すように直線関係を示さないので，品質管理において濃度との関係でデータ処理の正確さを図るため，今回CV値算出等の値の処理には吸光度を用いた．また，透過率では濃度が濃いほど値が小さくなるため吸光度で表した方がわかりやすいので，今後吸光度に切り替えることが望ましいと考える．

メーカーでは生の植物から原料抽出液を製造した際，20Lのボトルに分注保存している．最初に測定したLot. No. 11.F.1の結果を表1に示したが，同一ボトル内のCV値は2.8%で，ボトル6本間では3.1%であった．今回のアントシアン濃度の測定法は試験操作が単純である割にはバラツキが大きいように思われた．試料は全て10mlの試料瓶6本に採取したため，ボトル内も6本の試料瓶から個々に測定した．メーカーによると，空気に触れると若干不安定であるとのことなので，2回目からは，試料瓶を試料で満たし，空気との接触を防ぐよう工夫した．表2に見られるように，その後は測定値が安定し，ロット内ボトル間でのバラツキが減少し，CVは1%程度となった．ところが，当所のデータとメーカーのデータと

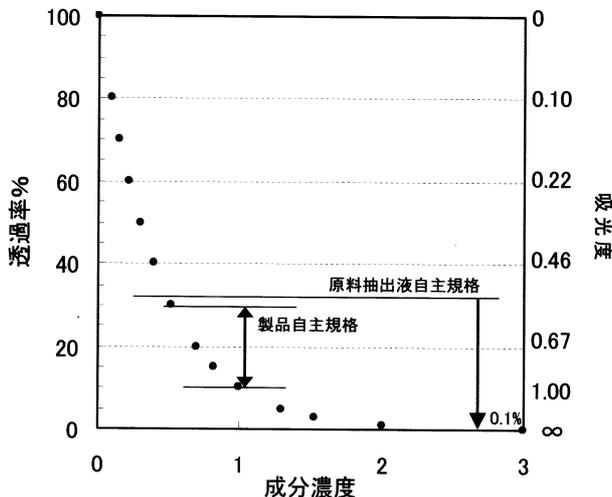


図1．成分濃度と透過率及び吸光度の関係

成分濃度1のとき透過率10%（吸光度1.00）を示すものとして表した．原料抽出液自主規格：32%以下 製品自主規格：15～30%

表1．原料抽出液（Lot.No.11.F.1）ボトル内及びボトル間のアントシアン濃度*のバラツキ

ボトルNo.	アントシアン濃度*	
F1-20	試料瓶 1	0.772
	試料瓶 2	0.767
	試料瓶 3	0.775
	試料瓶 4	0.767
	試料瓶 5	0.824
	試料瓶 6	0.780
F1-20	(平均)	0.781
F1-6		0.836
F1-10		0.807
F1-16		0.785
F1-26		0.785
F1-30		0.833
	ボトル間平均	0.804
	標準偏差	0.025
	CV%	3.1

* 544nmにおける吸光度

表2. 原料抽出液アントシアン濃度*のロット内のバラツキ及び季節変動

Lot . No.	11.F.1	11.G.1	11.H.1	11.I.1	11.K.1	11.L.1	ロット間の バラツキ	
調製時期	7月	8月	9月	10月	11月	12月		
当所	6	0.836	0.860	0.738	0.752	0.825	0.783	
	10	0.807	0.851	0.735	0.740	0.837	0.793	
	16	0.785	0.851	0.738	0.745	0.830	0.779	
	20	0.780	0.845	0.740	0.747	0.826	0.781	
	26	0.785	0.842	0.742	0.754	0.825	0.801	
	30	0.833	0.839	0.747	0.740	0.833	0.795	
	平均	0.804	0.848	0.740	0.746	0.829	0.789	0.793
	標準偏差	0.025	0.008	0.004	0.006	0.005	0.009	0.043
	CV%	3.1	0.9	0.6	0.8	0.6	1.1	5.5
	メーカー	6	0.695	0.717	0.652	0.654	0.710	0.726
10		0.695	0.721	0.652	0.658	0.717	0.706	
16		0.699	0.733	0.658	0.654	0.717	0.717	
20		0.697	0.733	0.650	0.654	0.717	0.717	
26		0.699	0.721	0.652	0.654	0.728	0.706	
30		0.693	0.717	0.654	0.654	0.717	0.710	
平均		0.696	0.724	0.653	0.654	0.717	0.713	0.687
標準偏差		0.003	0.007	0.003	0.002	0.006	0.008	0.031
CV%		0.4	1.0	0.4	0.2	0.8	1.1	4.6

* 544nmにおける吸光度

表3. 製品及び使用原料抽出液のアントシアン濃度*とそのバラツキ**

Lot. No.	F19G02	F19G03	F19G08	F19G09	F19G12	F19G17	F19G19	F19G21	G19H19	H19J12	I19K27	K10A14	L10B17	ロット間の バラツキ
調製時期	8月	9月	10月	12月	1月	3月								
製品 (アンプル)	0.653	0.658	0.662	0.654	0.672	0.641	0.667	0.648	0.671	0.661	0.615	0.671	0.650	
	0.650	0.654	0.650	0.650	0.665	0.666	0.671	0.671	0.653	0.661	0.598	0.653	0.665	
	0.683	0.625	0.667	0.666	0.658	0.671	0.662	0.674	0.680	0.661	0.614	0.680	0.641	
	0.642	0.658	0.656	0.666	0.641	0.663	0.644	0.667	0.679	0.638	0.619	0.679	0.666	
	0.658	0.663	0.666	0.670	0.654	0.665	0.672	0.671	0.672	0.667	0.626	0.672	0.653	
	0.676	0.658	0.660	0.646	0.668	0.672	0.677	0.671	0.680	0.659	0.618	0.680	0.667	
	平均	0.660	0.653	0.660	0.659	0.660	0.663	0.665	0.667	0.673	0.658	0.615	0.673	0.657
標準偏差	0.016	0.014	0.006	0.010	0.011	0.011	0.012	0.010	0.010	0.010	0.009	0.010	0.011	0.015
CV%	2.4	2.1	1.0	1.5	1.7	1.7	1.8	1.4	1.5	1.6	1.5	1.5	1.6	2.3
原料抽出 液 (ボトル)	0.802	0.740	0.817	0.788	0.764	0.807	0.770	0.754	0.758	0.730	0.719	0.768	0.758	
	0.836	0.839	0.814	0.770	0.814	0.785	0.762	0.773	0.756	0.742	0.716	0.770	0.756	
	0.869	0.847	0.754	0.790	0.829	0.801	0.755	0.768	0.758	0.741	0.719	0.765	0.758	
	0.848	0.821	0.758	0.761	0.793	0.796	0.767	0.769	0.754	0.748	0.718	0.768	0.754	
	平均	0.839	0.812	0.786	0.777	0.800	0.797	0.763	0.766	0.756	0.740	0.718	0.768	0.756
標準偏差	0.028	0.049	0.034	0.014	0.028	0.009	0.006	0.008	0.002	0.007	0.001	0.002	0.002	0.026
CV%	3.3	6.0	4.3	1.8	3.5	1.2	0.8	1.0	0.3	1.0	0.2	0.3	0.3	3.4

* 544nmにおける吸光度

** 当所データ

比べたとき、当所のデータは常時透過率の値で約5%小さかった。この原因を検討するため、まず分光光度計の校正が必要と考えた。

分光光度計の校正 当所の測定器は自記分光光度計であり、日本薬局方に従い440nmの透過率校正用光学フィルター及び重クロム酸カリウム法により校正を行ったとこ

ろいずれも適合していた。ところが、メーカーの測定器はセルが丸形で、しかも波長域の限定された分光光度計であったために、角型の標準フィルターは使用できず、重クロム酸カリウム法では使用波長域が外れるため校正が出来なかった。そこで、製剤と色調が似ているフェノールフタレイン溶液を調製し当所とメーカーの測定器で

測定したところ当所での測定値は透過率22%のところメーカーでは27%を示し、両者のデータ差は測定器によるものと判明した。本試験法は標準を立てて行う定量ではなく、得られた透過率をそのまま使用するため、測定器の正確さが重要である。メーカーの測定器は補正の出来ない構造になっていることから、メーカーに分光光度計の校正方法を検討してもらい、自主法としてニッケルグリオキシム液の465nmにおける吸収を用いて検定することにし、値に客観性を持たせることとした。

原料抽出液のロット内均一性と季節変動 結果を表2に示してあるが、ロット内ボトル間のバラツキは前述のように当所の初回Lot. No. 11.F.1の測定においてCV 3.1%とややばらついたが、これは試料採取方法の改善によって解消し、以後1%程度に収まり均一性に問題はないと考えられた。アントシアン濃度は8月及び11月に高く、9月及び10月にやや低かったが、変動は収穫期を通して一定の傾向ではなかった。品質規格として、メーカーは透過率32%以下(吸光度として0.49以上)と規定しているが、各時期抽出液のアントシアン濃度の変動はCV 5%程度であり、天然成分としてこの変動は問題となるものではないと考えられた。植物の品質は天候によっても異なるので、今後も引き続き測定し、年単位の変動もつかんでおく必要がある。

製剤とその原料抽出液におけるアントシアン濃度 原則として原料抽出液の保存ボトル4本から製剤1ロットが製造されている。そこで使用した原料抽出液と製剤中のアントシアン濃度の測定結果を表3に示した。8月に搬入された8ロットはいずれもLot. No. 11.F.1の原料抽出液を原料としている。前述の原料抽出液の場合と同様、初期には原料抽出液のデータは4本のボトル間のCV値が6%までバラツキが大きかったが、試料瓶への充填方法を改善後は測定値のバラツキは1%以内に減少した。製剤はアンプルに封入されているため試料採取の影響はないが、ロット内でCV値1.0~2.4%を示し均一と考えられた。ロット間では測定13ロットでCV値は2.3%で、かなり安定していた。

いずれの製剤もメーカー自主規格であるアントシアン濃度透過率として10~30%(吸光度値0.52~1.00)の範囲に十分入っていた。また、製剤のアントシアン濃度は原料にかなり依存していることが確認された。

今回は直近に製造された同一ロットの抽出液を使用して製造したケースで検証を行ったが、メーカーでは収穫期以外には保存された抽出液を使用し製造を行っており、異なったロットの原料抽出液をまぜ合わせて使用す

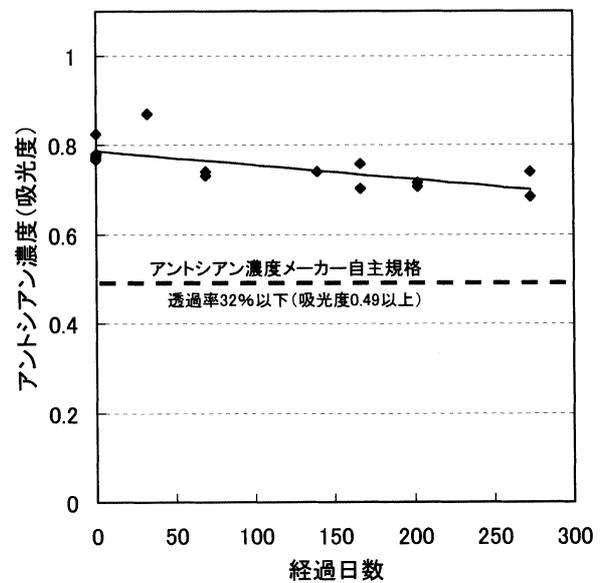


図2. 原料抽出液のアントシアン濃度経時変化

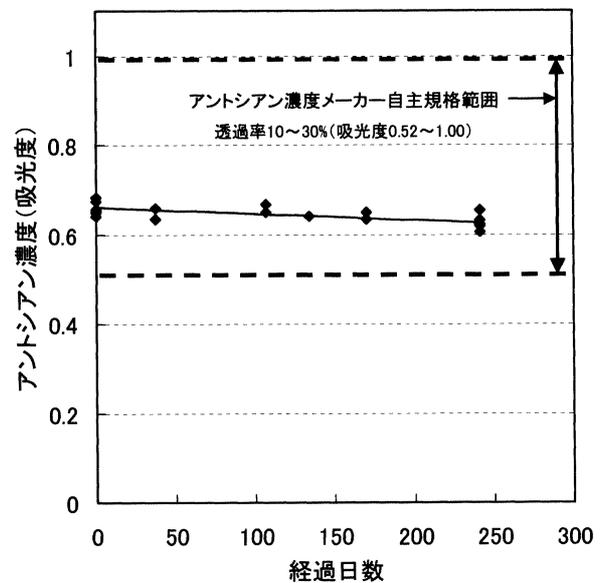


図3. 製剤のアントシアン濃度の経時変化

ることもあるということである。その際には、濃度の異なる原料抽出液を使用してブレンドすることにより、製剤のアントシアン濃度のばらつきをより小さく抑えることも可能であると考えられる。

経時変化について 原料抽出液は9ヵ月、製剤は8ヶ月間アントシアン濃度の安定性を検討した結果を図2及び3に示した。いずれもメーカー自主規格の範囲に収まっていたが、漸次濃度が低下し、最終的に原料抽出液では平均値で0.78 (n=6) から0.71 (n=2) へ、製剤では0.66 (n=6) から0.62 (n=6) へと減少した。製剤では両側t検定の結果P値0.0054が得られ、1%の危険率で統計的に有意の差が認められた。以上の結果から、原料抽出液については次工程までの保存期限の検討が必要である。また、製剤については今回の保存は10 暗所だったので、

今後更に夏季のことも考慮に入れ、加速試験や長期保存試験を行う必要があると考えらる。その結果によっては有効期限の設定等も検討する必要がある。

ま と め

生の薬用植物からの抽出物を内用液剤に製造しているメーカーに対しバリデーション支援を行った。原料薬用植物は天産物であるため成分含量の変動が不可避であるが、今回アントシアンの濃度を指標として原料の変動及び保存中の変化を調べた。

1) アントシアンの濃度の測定は標準を用いないため、分光光度計の校正が重要な要素である。メーカー所有の分光光度計は日本薬局方の方法による校正が難しかったため、ニッケルグリオキシムによる検定方法を設定した。
2) 年間のアントシアンの含量の変動は5%程度であり、安定した品質の製剤を製造するという観点では、ほぼ問題がないことが検証された。

3) 10 暗所で保存した場合、原料抽出液、製剤ともに8ヶ月でわずかではあるが有意の減少を示した。今後、加速試験や長期の保存試験を行い、安定性の検討を行う必要がある。

文 献

- 1) 岸本清子, 安田一郎, 宮武ノリエ, 他: 東京衛研年報, 50, 49-54, 1999.
- 2) 中嶋順一, 寺島 潔, 岸本清子, 他: 東京衛研年報, 50, 55-58, 1999.
- 3) 浜野朋子, 瀬戸隆子, 塩田寛子, 他: 東京衛研年報, 50, 59-64, 1999.
- 4) 木島正雄, 柴田承二, 下村 猛, 他: 廣川薬用植物大辞典, 1973年版, 352, 廣川書店, 東京.
- 5) 厚生省医薬安全局審査研究会監修: 医薬品製造指針, 1997年版, 308-313, 薬業時報社, 東京.