

医薬品分析  
—製剤分析を中心として—

1. はじめに

医薬品及びその製剤は、疾病の診断と治療あるいは予防また健康の維持増進に有効であり、かつ安全性が保証されたものでなければならない。そして、これらの医薬品を服用する立場のものを保護するため、高度に品質の確保された医薬品の供給が要請されていることは当然である。また、医薬品の製造現場では、品質の良い優れた製品を製造するためGMP (Good Manufacturing Practices) に続いて、バリデーション (設備、工程、方法の精度管理) <sup>1)</sup>が導入されている。これにより、医薬品の品質に影響をもたらすと考えられるすべての要因を考慮しつつ、トータル的に品質を保証していく品質保証の考え方が定着しつつある。しかしながら、医薬品の品質を確保するために、最終製品の品質試験によって品質の確認を行うという品質管理の方法の重要性は、従来から変わらない。

医薬品分析には、原薬の定量法や原薬中に含まれる不純物、分解物などの分析、生体試料中の薬物濃度測定法を主体とした臨床分析などもあるが、今回は製剤中の主薬の分析や製剤の特性試験などに関する製剤分析について紹介する。一般に製剤分析は、製品の品質管理の手段の一つとして行われ、配合医薬品が表示通り配合されているか、時によっては製造のとき、また保存中の経時変化による分解のため、不純物が混在していないかを試験するものである。

製剤の主薬成分の分析について、従来は比色法、滴定法、ガスクロマトグラフィー (GC)、薄層クロマトグラフィーが主体であった。しかし、近年の液体クロマトグラフィー (LC) の急速な進歩により、主にLCによる方法が多く使用されている。またLCでも新しい分析手法として、光学異性体を直接分離分析するキラル認識カラムによる分析法やキャピラリーカラムを用いる動電クロマトグラフィーによる分析法等が開発され、製剤分析にも応用されている。

一方、一般用、医療用など製剤中の主薬成分の分析に

ついて、公定法はほとんどなく、それぞれの製剤につき、個々に試験方法の検討が必要になる。また、成分の規格等は各医薬品製造承認書ごとに規定されている。その他、一部の製剤の試験法については、日本薬局方、日本薬局方外成分規格、米国薬局方 (USP) などに記載がある。

2. 主薬の定量分析

製剤には錠剤、カプセル剤、散剤などの固形製剤、注射剤、シロップ剤などの液剤及び軟膏、懸濁剤などの半固形製剤に分類される。これら製剤中の主薬の定量法については吸光光度法、LCなどの定量法が多く行われているが、抽出の簡素化、同時定量、自動化などを目指し、簡便で精度の高い方法に変更されつつある。

2.1 吸光光度法による定量

溶液中の成分が光を吸収する度合いを測定し、その成分を分析するもので、分光光度計による方法として広く用いられてきた。医薬品の定量の手段としては、溶媒抽出法により目的成分を分離した後、その吸光度を測定するか、適当な発色試薬を加え目的成分のみを呈色させ、その吸光度を測定するか、数波長でそれぞれ吸光度を測定し、連立方程式を立てた後計算を行い、単一成分の吸光度を算出するなどの方法が取られてきた。

しかしながら、複雑な処方混合製剤の分析では、共存成分の影響を受けることが多く、また主薬以外の安定剤、滑沢剤などの医薬品添加剤が目的成分の抽出、さらに呈色反応の妨害となることが少なくない。このため混合製剤の場合は、共存成分の影響を検討し、呈色反応を選択する必要がある、妨害物質の除去法及び目的成分の製剤からの回収率の検討など十分に行うことが必要とされる。

これらの操作性、精度などを考慮すると、この方法は順次分離、分析を同時に行うクロマトグラフィーを用いた機器分析法により、自動化、同時定量など簡便性も追求されたものに移行していくのは当然といえる。

## 2.2 LCによる定量

本法は、固定相として適当なクロマトグラフ用充填剤を詰めたカラム中に、移動相として液体を流すことにより、カラムに注入された混合物の固定相に対する保持力の差を利用してそれぞれの成分に分離し、紫外部、可視部、示差屈折検出器などを用いて分析する方法である。通例、液体試料あるいは溶液にできる試料に適用され、物質の確認、純度の試験、また定量などに用いる。

一般に医薬品には、沸点が高く、温度を上げると分解しやすい物質が少なくなく、水を含むならぬかの溶媒に溶解する物質が多い。このため、優れた分離効率と再現性を持つこの分離分析法を利用すれば、常温付近で、迅速かつ鋭敏な定性、定量分析が可能である。また一旦条件の設定がされれば、試料の注入、分離、検出、記録を自動的に行うことができ、ルーチン分析にも適している。さらに製剤からの各成分の抽出も比較的簡単な方法でよいことも多く、試料溶液の調製も容易である。

これらのことから製剤分析にLCを用いる利点は数え切れず、応用例<sup>2)</sup>が多く報告されている。図1に錠剤中の塩酸プロムヘキシシ(去痰薬)及び塩酸チアラミド(消炎剤)を分析した際のクロマトグラムを示した。これらの薬剤は、メタノールを含む水で抽出した後、内標準法で分析した。

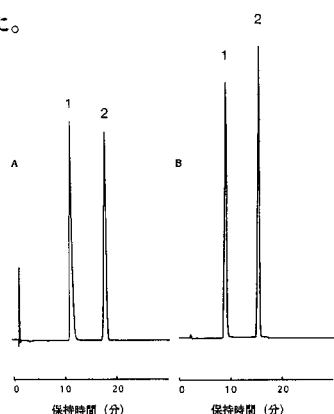


図1 錠剤中の薬効成分の分析  
A: 1 塩酸プロムヘキシシ, 2 内標準物質 (プロピルパラベン)  
B: 1 塩酸チアラミド, 2 内標準物質 (メチルパラベン)

### 2.2.1 光学異性体の分析

医薬品には不斉炭素を有する化合物が多く、これら不斉炭素を有するものには光学異性体が存在する。この光学異性体により有効性、毒性、体内動態が異なる場合が少なくない。したがって、品質、有効性、安全性を考慮するとき、これらの光学異性体の分離分析法を検討することは非常に重要なことである。

光学異性体の分析法としては、光学活性な試薬を反応させ、ジアステレオマーとし分析するキラル誘導体化法、光学活性な化合物をシリカゲルなどに反応させて固定相としたカラムにより、光学異性体を直接分離するキラル

カラム法及び移動相に光学活性な化合物を添加して分離するキラル移動相法の三つに分類される。これらは、主にLCで分析できる。

錠剤中のマレイン酸クロルフェニラミンについて、キラル認識カラムにより*d*-及び*l*-体を分離分析<sup>3)</sup>した際のクロマトグラムを図2に示した。マレイン酸クロルフェニラミンの薬効である抗ヒスタミン作用は、*d*-体にあり、*l*-体にはほとんど存在しない。

### 2.2.2 キャピラリーカラムを用いる分析

キャピラリーカラムは、GCにおいて高分解能を得るために開発されたものである。近年、石英を素材とするフューズドシリカキャピラリーカラムが開発され、キャピラリー電気泳動(CE)にも応用されている。CEとは、電解質で満たされたキャピラリーの両端に高電圧を負荷すると、その中でチャージを持った物質が移動し、その泳動時間の差で分離を行うものである。

さらに、電気泳動用緩衝液に硫酸ドデシルナトリウム(SDS)の様な界面活性剤を加えると、イオン性ミセルが生成する。ミセルは、電気泳動移動度を持つと同時に、中性物質を可溶化する性質がある。ミセルに可溶化して取り込まれた物質は、間接的に電気泳動移動度を持つことになり、その大きさは、物質のミセルに取り込まれる割合に依存することになる。したがって、ミセルに分配される割合により、見かけの電気泳動移動度が異なるため、CEによる分離が可能となる。これを動電クロマトグラフィーといい、選択性、迅速性、試料調製の容易さなどの特徴をもつことから、将来ますます発展することが期待される。

漢方エキス製剤三黄瀉心湯中の指標成分であるベルベリン(黄連)とバイカリン(黄ごん)を、CEにより分析した際のクロマトグラムを図3に示した。

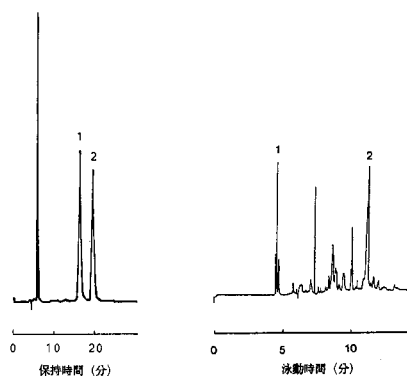


図2 光学異性体の分析  
1 *d*-マレイン酸クロルフェニラミン  
2 *l*-マレイン酸クロルフェニラミン

図3 漢方エキス製剤の指標成分の分析  
1 ベルベリン, 2 バイカリン

## 3. 製剤の特性試験

医薬品の各種製剤の特性試験には、崩壊試験、溶出試

験及び主薬含量の少ない錠剤、カプセル剤に適用される含量均一性試験などがある。

### 3.1 崩壊試験

崩壊試験は、内服用の固形製剤全般に共通して適用し、水又は人工消化液に対する抵抗性もしくは崩壊性を試験する方法である。崩壊とは、成型された固形製剤が、試験液中で消失するか、少なくともある規定より小さい粒子状態にまで分散する現象をいう。

この試験は、製剤からの薬物の吸収に関連をもつ試験ではあるが、これと直接には対応していない。この目的のためにはむしろ溶出試験を行い、有効成分の測定をする方が適当と考えられている。したがって、この試験は製剤工程の技術的な面を観察し、ばらつきの少ない製剤を市場に提供するための一手段として考えられ、品質管理試験法的な意味においての役割を果たしている。

### 3.2 溶出試験

溶出試験は、定められた溶解条件で主薬の溶出率を測定するものである。

同一医薬品製剤で化学的な性質及び崩壊時間がほとんど変わらない場合であっても、製品によってその生体内への移行あるいは薬効が異なる場合が観察されることがあり、そのうちのあるものは主薬の溶解速度に起因している。このため、期待した有効性及び安全性の観点から品質の適合性が論ぜられ bioavailability、さらに生物学

的同等性を予測する手段として、溶出試験が重要視されるようになった。

### 4. おわりに

医薬品の製剤化の研究は、近年ますます盛んになり、特にDDS (Drug Delivery System)<sup>4)</sup>に関する研究が多方面でなされている。このDDSには高分子物質、微粒子、細胞などを担体として用い、薬剤を効率よく目的部位に運ぶ手法あるいは薬剤の放出速度を調節する手法などがある。いずれにしても製剤化に新しい素材が使用されることになり、その分析は高度化することが予想される。

また遺伝子工学によって生産される医薬品の製剤なども開発が盛んとなり、これら医薬品の有用性を保証する品質試験方法の開発も急務である。

原薬はいうまでもなく、製剤についてもその医薬品としての品質を確保するための試験方法の開発の重要性は、今後ますます増大していくものと考えられる。

### 文 献

- 1)川村邦夫：GMPテクニカルレポート1，薬業時報社，1990。
- 2)三上栄一ら：医薬品研究，24，533，1993。
- 3)三上栄一ら：薬剤学，51，241，1991。
- 4)嘉悦勲編：DDS技術の進歩，薬業時報社，1990。  
(食品薬品部 三上栄一)

## 第2のエイズ原因ウイルス (HIV-2型) 感染国内第1例の概要とHIV-2の現状

エイズウイルスは、世界的に蔓延しているHIV-1型と、発見がHIV-1より新しく検出報告が西アフリカに集中しているHIV-2型が知られている。本年7月6日マスコミ等で報道されたところであるが、わが国でHIV-2感染第1例が確認されたことから、厚生省は7月5日エイズサーベイランス委員会を緊急召集し、日本赤十字社や、保健所で新たにHIV-2の抗体検査を開始する等、検査体制を大幅に強化する方針を決定した。当愛知県では本年9月1日実施を目標に現在準備中である。そこで、本技術情報ではHIV-2感染第1例の概要、発見の経緯、HIV-2のこれ迄の知見及びその検査法等について紹介したい。

### HIV-2感染第1例の概要

#### 1. 感染者のプロフィール

29歳男性、外国人、昨年12月HIV抗体検査の目的で来日、検査結果を聞かずに約1週間後に帰国した。そのため感染経路、感染地域等不明である。

#### 2. 経緯

4年12月3日：都内の病院をHIV検査のため受診、検査結果はHIV-1スクリーニング検査 (PA法) 弱陽性、確認検査 (IPA法) 弱陽性

4年12月22日：担当医よりHIV-1感染者 (無症候性キャリア) として都に報告

5年1月26日：エイズサーベイランス委員会でHIV-1感染者として確認される。

5年3月：この検査を担当したA民間検査機関は厚生省研究班調査及び米国精度管理プログラムにおいて、今回と同様の反応を示す事例を経験していたことからHIV-

2感染を疑い、確認検査を実施しHIV-2陽性と判定した。

5年5月：A民間検査機関が本邦のHIV-2感染の第1例として日本臨床病理学会（10月20～21日開催）に演題を提出（演題登録締切5月末）

5年6月：厚生省は上記情報入手、この検査成績をフランスのパスツール研究所へ送付、確認依頼をした結果、HIV-2感染が裏付けられた。

## HIV-2について

### 1. 歴史的背景

1985年10月、パスツール研究所のリュック・モンタニエ（HIV-1を分離した研究者）はポルトガルの研究者が持ち込んだ血液を検査した。この血液は旧ポルトガル領だった西アフリカのギニアビサウに住む人達の血液で、この血液中にはHIV-1と反応する抗体が無いのに患者にはエイズの症状があり、ポルトガルの臨床医達によってエイズと診断されていた。モンタニエがこの血液を検査したところHIV-1抗体は陰性だった。ところが、この血液からある種のウイルスが検出され、HIV-1と比較すると似てはいるが別のウイルスであることが判り、HIV-2と命名された。その後の調査から、エイズと診断されたポルトガル人からHIV-2抗体が検出され、その中には1960年代に感染したと考えられる症例があること、また1966年に象牙海岸とナイジェリアで集められた血清からHIV-2抗体が検出される等から、HIV-2は少なくとも1960年代頃から西アフリカに存在していたと推測されている。

### 2. 感染者の分布

(1)アフリカ：西アフリカを中心に流行しており（約5万人の患者・感染者が存在）、HIV-1が中央アフリカや東アフリカで流行しているのと比べ分布が異なる。

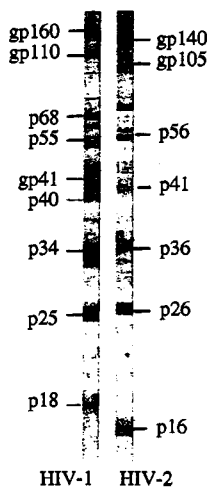


図1 HIV-1とHIV-2の電気泳動パターン

(2)ヨーロッパ：ポルトガル、フランス、ドイツに多い、但しその大部分は西アフリカからの移民、または西アフリカや旧ポルトガル領へ旅行した者、西アフリカ人と性交渉を持った者である。

(3)北米、南米：アメリカ、カナダ、ブラジルで患者が報告されている。

(4)アジア：インドで各地の性病クリニックから感染者が報告されている。

### 3. 感染経路

感染経路はHIV-1のそれと同様で、性的接触、母子感染、輸血である。

### 4. 症状

HIV-1と同じく、体重減少、持続的発熱、下痢が主要3症状として見られ、この他リンパ腺症が随伴することが多く、進行するとカンジダ、結核、カリニ肺炎等種々の日和見感染症が併発する。T4リンパ球も減少し免疫不全症に陥る。しかし諸症状についてはHIV-1、HIV-2それぞれに特有の傾向はなく、外見的な症状だけからは判別できない。

### 5. 病原性

母子感染率はHIV-1の約1/5～1/10、性行為感染率は約1/5～1/10、発症迄の期間はHIV-1に比し約8倍長いと報告されていることから、HIV-2はHIV-1に比べ病原性が弱いと考えられている。

### 6. HIV-1とHIV-2の異同

形態学的には両者は同じである。また免疫学的にみると、前述したように、西アフリカで最初に発見された患者はエイズとみなしていい患者であったが、HIV-1に対しては抗体陰性であった点からHIVとは異なったウイルスによってエイズになっていると考えられた。しかし、図1に示したように電気泳動パターンを比較してみると、HIV-2はHIV-1抗体と全く交差反応を示さないというので

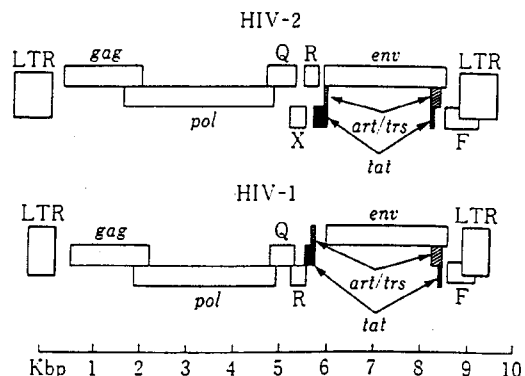


図2 HIV-2とHIV-1の遺伝子構造の比較

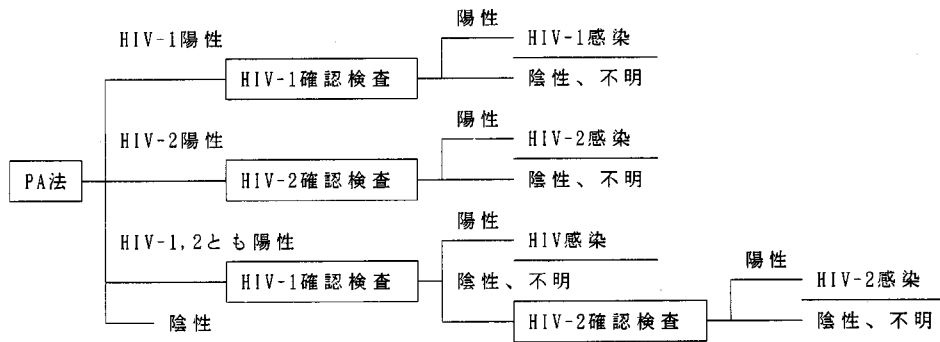


図3 HIV-1とHIV-2の型別の手順

はなく、一部は弱く反応する。しかし他は反応しない。例えば、ウイルスのEnvelope（外皮）に突きささっているスパイクのノブ部分を構成する糖タンパクの分子量をみると、HIV-1では110Kilodaltons(Kilodaltons：以下K)、HIV-2では140K、スパイクの茎部分はHIV-1が41K、HIV-2が36K、ウイルス外皮膜の最内層にある膜部分はHIV-1が18K、HIV-2が16Kというように差異が認められている。また遺伝子構造は図2に示したが、LTR（long terminal repeat: 繰り返し塩基配列）、gag（group specific antigen: ウイルス群特異抗原をコードする遺伝子）、pol（逆転写酵素、polymeraseをコードする）、env（envelopeをコードする）等の基本的ゲノムの配列はHIV-1、HIV-2とも同じである。しかしHIV-2にはFあるいはRと呼ばれる調節遺伝子だけでなく、もう一つXというのがあり、このXはHIV-1には存在しない。アミノ酸配列の類似はpol、gagの二つの遺伝子の類似性は高く55～60%である。それと比較してenvは37%（35～40%）の類似性を示すに過ぎず、またQ、R、Fのような遺伝子も、その塩基配列の殆どが何らかの形で異なっている。

#### HIV-2の検査方法

##### 1. HIV-1用スクリーニング検査による方法

HIV-2との交差反応が5～60%にとどまることから、この方法では約3～4割の率で感染者を見逃す恐れがある。

##### 2. HIV-2を検出するための方法

(1)PA法：HIV-1とHIV-2を個々に検出できる（セロディア HIV-1/2・富士レビオ）。本格的販売本年秋季

(2)ELISA法：HIV-1とHIV-2両者を同時に検出できるが、どちらかの型別は不能（エラビアミックス）

以上の2種であるが、本県ではPA法で検査実施予定であるので、以下PA法について述べる。

#### PA法の実際

##### 1. 定性法

- (1)血清希釈用液を第1穴に3滴（75 $\mu$ l）、第2穴、第3穴、第4穴には各1滴（25 $\mu$ l）ずつ滴下する。
- (2)マイクロピペットにより検体を25 $\mu$ lとり第1穴に入れる。
- (3)ダイリューターまたはピペットを用いて第1穴から第4穴迄2倍階段希釈を行う。
- (4)キット添付のスポイドで第2穴に未感作粒子、第3穴にHIV-1感作粒子、第4穴にHIV-2感作粒子をそれぞれ1滴ずつ滴下する。
- (5)ミキサーで内容物を混和後、ふたをして室内温度にて水平静置し2時間後に判定する。

##### 2. 定量法

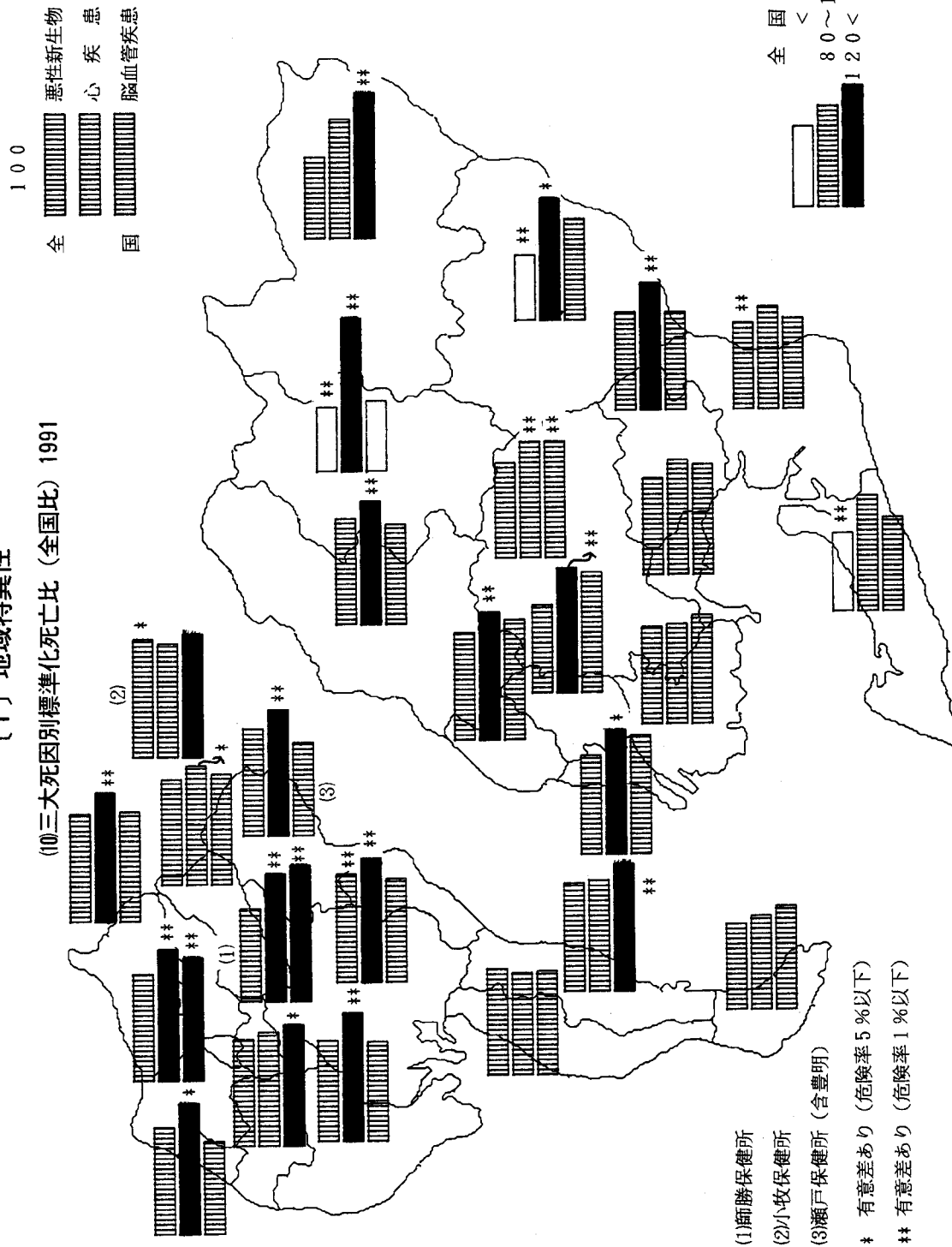
- (1)血清希釈用液を第1穴に3滴、第2穴から最終穴まで各1滴ずつ滴下する。
  - (2)第1穴に検体25 $\mu$ l入れる。
  - (3)第1穴から最終穴迄2倍階段希釈を行う。
  - (4)第2穴に未感作粒子を1滴滴下する。定性でHIV-1感作粒子またはHIV-2感作粒子のどちらか一方のみ陽性の場合には該当する感作粒子のみ試験する。すなわちHIV-1抗体を測定する場合は第3穴以降にHIV-1感作粒子を1滴ずつ入れ、HIV-2抗体を測定する場合は第4穴以降にHIV-2感作粒子を1滴ずつ入れる。HIV-1及びHIV-2両者陽性の場合には検体希釈列を2系列作成し、それぞれの感作粒子を1滴ずつ滴下する。以下は定性法と同様である。
- 定性及び定量試験で陽性の場合には図3の手順で最終的に結果が判定される。

以上HIV-2の概要を簡単に述べた。HIV-2の感染がわが国で拡大しないことを願いつつ稿を終えたい。

（ウイルス部 三宅恭司）

〔1〕 地域特異性

(10)三大死因別標準化死亡率比 (全国比) 1991



(注)人口データは1985年のものを使用した  
 (「あいちの衛生統計(平成3年)」より)  
 (保健情報室)

この図を見てご意見・ご感想などありましたら、ご連絡下さい。