

令和 7 年 度

富山県薬事総合研究開発センター一年報

(第 53 号)

ANNUAL REPORT
OF
TOYAMA PREFECTURAL INSTITUTE
FOR
PHARMACEUTICAL RESEARCH

No. 53 2026



富山県薬事総合研究開発センター

はじめに

私は、令和6年4月より、富山県薬事総合研究開発センター（薬総研）の運営・管理に携わっている合田幸広で、専門は、医薬品と天然物のレギュラトリーサイエンスです。令和7年度も、薬総研は、日本で唯一の薬事に関する公立の開発型研究機関として「薬事に関する研究開発、試験、分析、技術指導と医薬品等の品質、有効性及び安全性の確保を図り、県内の薬業振興と県民の保健衛生の維持向上に資するための業務」を実施してきました。本年報は、この一年間の、組織の運営、研究業績、指導業務等をまとめたものです。

薬総研は研究機関であり、多くの研究職員は博士号を所持しています。研究とは、端的に言うと、論文を読み、研究計画を立て、予算を確保し、実験を行い、研究成果を報告することです。研究者の社会では、最終的に研究成果の報告を論文として書き残すことが重要とされます。論文は、研究実施者以外の第三者の目で、査読、審査されなくてははいけませんが、これは論文の、正確性、公平性を担保し、研究にとって最も重要な再現性を確保するためのシステムと言えます。薬総研の年報では、昨年度の第52号より上記の事を鑑み、査読の際には、必ず外部の査読者を加え、厳密な審査を行うことにしました。さらに、担当編集委員は、その報告に関与していない所内の研究者が担当するように徹底しました。従って、52号以降の研究報告は、外部の和文の学術雑誌の論文と同等の水準を持つものと考えています。

本誌は、A「組織・運営」、B「研究業績」、C「指導業務など」の3項に分けてまとめられています。Aでは、薬総研の組織としての活動の概略を、Bでは、上述した研究報告も含めて研究活動について、Cでは薬総研の業務のひとつである、県内の薬業振興と県民の保健衛生の維持向上に資するための指導業務や、試験・審査活動等についてまとめています。

薬総研は、創薬研究開発センター、製剤開発支援センター、薬用植物指導センターの3センターで構成されています。昨年度、創薬研究開発センターでは、「くすりのシリコンバレー TOYAMA」創造コンソーシアム研究開発事業として「創薬シーズによる新規医薬品の開発」が3年計画で採択されました。さらに、製剤開発支援センターでは、県のサンドボックス予算にて「イソリクイリチゲニン高含有甘草エキス錠剤のヒト安全性試験」を実施しました。また人事面では、川瀬逸也博士が、令和8年3月に製剤研究課に採用されました。薬用植物指導センターでは、富山ブランドシャクヤク「春の粧」を育種しましたが、令和7年度産の同シャクヤクについても、市販の薬用酒の原材料となることが決まっています。これらの事業だけでなく、薬総研は常に県と、県民を念頭においた研究活動を実施しています。引き続き、県民の皆様から信頼される薬総研となるよう、所員・スタッフ一同、より一層業務に邁進する所存ですので、ご支援のほど、宜しくお願い申し上げます。

最後になりますが、研究報告について査読をお引き受け頂いた外部査読者の先生方、お忙しい中、査読をお引き受け頂き、本当にありがとうございます。先生方の高い専門性に支えられて本誌の研究報告の水準が上がりましたこと、深く感謝します。

令和8年9月

富山県薬事総合研究開発センター所長

合 田 幸 広

目 次

組織・運営

I 総 括

A. 薬事総合研究開発センター

1. 沿 革	1
2. 位置・交通	1
3. 土 地	1
4. 建 物	1
5. 組織・業務（薬用植物指導センターを含む）.....	2
6. 職 員（薬用植物指導センターを含む）.....	2
7. 予算・決算（薬用植物指導センターを含む）.....	3
8. 備 品	5

B. 薬用植物指導センター

1. 沿 革	7
2. 位置・交通	7
3. 土 地	7
4. 建 物	7
5. 主 要 備 品	8

II 薬事総合研究開発センターこの一年

1. 各センターの取り組み	9
2. 視察・取材等	13

III 研究活動

1. 競争的外部資金等を活用した研究課題	14
2. 「くすりのシリコンバレー TOYAMA」創造コンソーシアム 研究開発事業	15
3. 上記以外の研究課題	16

研究業績

IV 研究報告【査読付き論文】

- 2軸スクリー型造粒におけるデザインスペースの構築（第4報）
ー長時間運転とスケールアップの検討ー
.....永井秀昌，本田裕恵，林正幸，薬事研究会製剤部会..... 18
- マウス創傷モデルにおけるシャクヤク根エキスの創傷治癒効果に関するプロテオーム解析
.....渡邊康春，小島理恵子，南谷武春，柳橋努，相川幸彦，
富山県薬事研究会生物部会..... 25

• 液体クロマトグラフ飛行時間型質量分析計 (LC-TOF/MS) 用いたニトロソアミン原薬関連不純物 (NDSRIs) の分析 米田哲也, 薬事研究会分析部会.....	37
• ガスクロマトグラフィー-質量分析計による医薬品中 DNA 反応性 (変異原性) 不純物の分析 高山信幸, 薬事研究会分析部会.....	51
• 日本薬局方ゴオウの定量法における L-アスコルビン酸の影響について 米田哲也.....	59

V 資 料

• 「令和7年度分析データ信頼性確保事業」事業報告 小笠原勝, 米田哲也, 高山信幸, 柚木芳.....	66
--	----

VI 講演・学会発表など

1. 講演・学会発表・誌上発表・共同研究論文	74
2. 知的所有権	80

指導業務など

VII 指 導

A 創薬研究開発センター・製剤開発支援センター

1. 講演会	81
2. 分析技術講習会	81
3. 開放試験室, 試験機器の利用	82
4. 製剤機器の利用	82
5. 相談者に対する指導	82
6. 講習会等	82

B 薬用植物指導センター

1. 栽培技術指導	83
2. 種苗の供給状況	84
3. 薬草教室	84
4. 講習会等	84
5. 生薬調製機械の利用	85
6. 見学者数	85
7. 相 談	85

Ⅷ 試 験	
1. 一般依頼試験	86
2. 行政依頼試験	86
3. 後発医薬品品質情報提供等推進事業	86
4. 登録試験検査機関における外部精度管理試験	86
Ⅸ 審 査.....	87
X そ の 他	
1. 客員研究員招へい事業	87
2. 外部評価委員会の開催	87
＜参考資料＞	
1. 条例・規則	88
2. 年報投稿及び執筆規程	97

組 織 ・ 運 営

I 総 括

A. 薬事総合研究開発センター

1. 沿革

昭和4年10月	富山県売薬同業組合立売薬試験場が設置される（富山市千石町）
昭和7年4月	富山県に移管され富山県売薬試験場となる
昭和10年9月	富山県庁内に移転（富山市新総曲輪1）
昭和19年4月	富山県薬業指導所と改称
昭和22年11月	富山県薬務課試験室と改称
昭和27年8月	富山県薬事研究所と改称され移転新築（富山市千歳町1-4）
昭和40年4月	庶務課，製剤研究課，医薬品試験課の3課を設置
昭和55年4月	薬草園が付設となる（中新川郡上市町広野）
昭和58年4月	薬草園が薬用植物指導センターと改称
昭和60年10月	新庁舎が完成し移転（射水郡小杉町（現 射水市）中太閤山17-1）
昭和60年10月	庶務課，薬剤薬理研究課，バイオテクノロジー・和漢薬研究課，医薬品試験課の4課制となる
平成4年4月	庶務課が総務課と改称
平成16年4月	総務課が衛生研究所及び環境科学センターと事務統合
平成27年3月	製剤開発・創薬研究支援ラボ開設
平成28年4月	国立医薬品食品衛生研究所の共同研究拠点の設置
平成30年4月	薬事総合研究開発センターに改称し，創薬研究開発センター，製剤開発支援センター，薬用植物指導センターの3センター体制となる
平成30年5月	創薬研究開発センター開所
平成31年4月	研究協力課の設置

2. 位置・交通

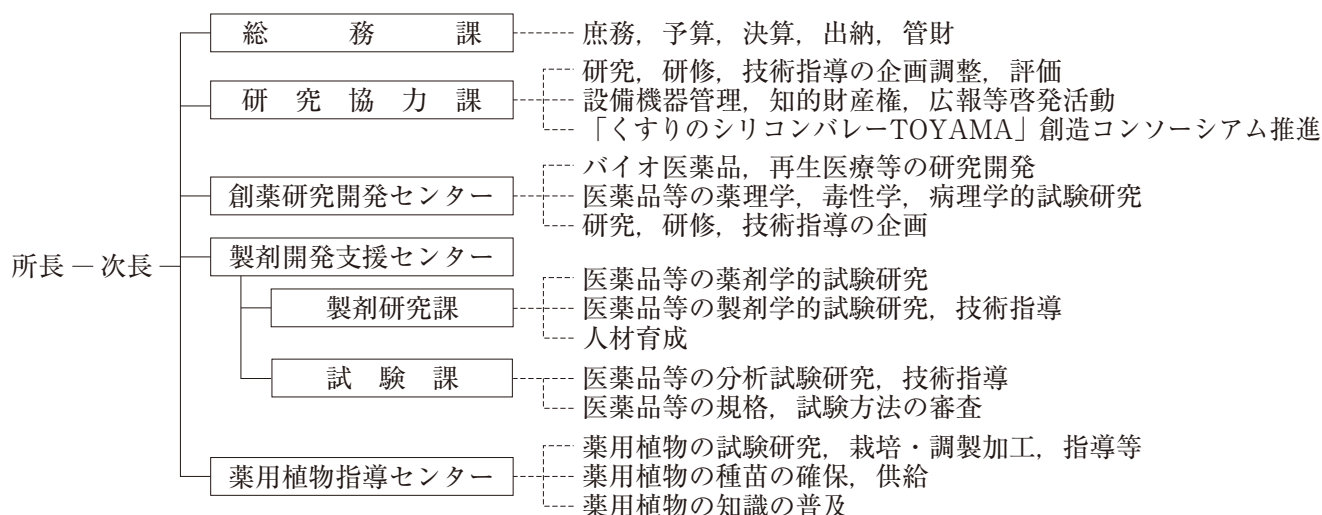
富山県射水市中太閤山17-1
あいの風とやま鉄道小杉駅より3km
北陸自動車道小杉インターチェンジより約3km

3. 土地 敷地面積 30,464.33 m²

4. 建物

研 究 棟	鉄筋コンクリート造2階建	1,969.88 m ²
動物実験棟	鉄筋コンクリート造平屋建	293.81 m ²
創薬研究開発センター棟	鉄骨造	1,287.15 m ²
そ の 他		333.49 m ²
計		3,884.33 m ²

5. 組織・業務(令和7年4月1日現在)



6. 職員

(令和7年4月1日)

所次	長	合渡	田会	幸三	広代
総務課					
課長	京大	部西	公裕	俊子	*
副主幹	昇	奥	陽	子	*
副主幹	国	嶋	美	子	*
主任専門員	中			希	*
研究協力課					
課長	浅小	井林	直直	子人	
主任研究員					
創薬研究開発センター					
センター長	相南	川谷	幸武	彦春	
副主幹研究員	柳	橋	康	努	
主任研究員	渡	邊	理	春	
主任研究員	小島	田裕	恵子	子	
(兼務)	本			恵	
製剤開発支援センター					
センター長	小笠原			勝	
製剤研究課					
課長	本永	田井	裕秀	恵昌	
主任研究員	林	林	正	幸人	
技術指導員	小				
(兼務)					
試験課					
課長(兼)	小笠原			勝也	*
主任研究員	米田		哲信	幸芳	
主任研究員	高山				
研究員	柚木				
薬用植物指導センター					
センター長(兼)	渡会	三千代			
副主幹研究員	山田	宗孝			
主任研究員	田村	隆幸			
技術指導員	東	一彦			

*衛生研究所, 環境科学センターを兼務

(令和8年4月1日)

所次	長	合渡	田会	幸三	広代
総務課					
課長	廣昇	世田	政陽	和子	*
副主幹	坂	田	聖	子	*
係主	任	奥	芙	子	*
主任専門員	中	嶋		希	*
研究協力課					
課長	浅小	井林	直直	子人	
主任研究員					
創薬研究開発センター					
センター長	相南	川谷	幸武	彦春	
副主幹研究員	柳	橋	康	努	
主任研究員	渡	邊	理	春	
主任研究員	小島	田裕	恵子	子	
(兼務)	本			恵	
製剤開発支援センター					
センター長	小笠原			勝	
製剤研究課					
課長	本永	田井	裕秀	恵昌	
主任研究員	川	瀬	逸	也	
研究員	林		正	幸	
技術指導員					
試験課					
課長(兼)	小笠原			勝也	*
主任研究員	米田		哲信	幸芳	
主任研究員	高山				
研究員	柚木				
薬用植物指導センター					
センター長	竹林	憲宗	司		
副主幹研究員	山田	村	孝		
主任研究員	田	隆	幸		
技術指導員	東	一彦	彦		

※衛生研究所を兼務

7. 予算・決算

(1) 令和7年度事業別予算

事業名	予算額	財源内訳		備考
		手数料等	一般財源	
薬事研究推進事業費	千円 30,967	千円 1,395	千円 29,572	※[薬事研究推進事業費]は、 薬事総合研究開発センター費、 薬用植物指導センター費及び 薬理毒性研究費の一部並びに 医薬品等試験研究費、和漢薬 研究費を一事業に統合したも の
薬事総合研究開発センター費	23,842	4,700	19,142	
創薬研究開発センター費	10,868	2,780	8,088	
薬用植物指導センター費	15,463	1,281	14,182	
薬理毒性研究費	3,415		3,415	
バイオテクノロジー研究費	2,366		2,366	
免疫応用医薬品探索研究費	2,647		2,647	
富山シャクヤクのブランド化推進事業費	3,502		3,502	
高付加価値製剤開発支援事業費	6,000	2,700	3,300	
科研費等間接経費	1,320	1,320		
医薬品品質評価研究費	34,754	3,780	30,974	
薬用植物生産技術開発研究費	1,950	1,950		
医薬品製造専門人材育成事業費	7,033	5,194	1,839	
計	144,127	25,100	119,027	

(2) 令和7年度歳入決算

款項目節	予算額	決算額	増減額	備考
使用料及び手数料	円 10,434,000	円 9,735,830	円 △ 698,170	
使用料	10,274,000	9,649,340	△ 624,660	
衛生使用料	10,274,000	9,638,960	△ 635,040	
薬事総合研究開発セ費	10,274,000	9,638,960	△ 635,040	
薬事総合研究開発セ費	4,700,000	4,583,860	△ 116,140	
試験開発研究費	1,500,000	1,767,150	267,150	
薬事研究推進事業費	1,395,000	732,190	△ 662,810	
薬用植物指導センター費	31,000	3,420	△ 27,580	
創薬研究開発センター費	2,648,000	2,552,340	△ 95,660	
その他使用料		10,380	10,380	
一般財源事業		10,380	10,380	
手数料	160,000	86,490	△ 73,510	
衛生手数料	160,000	86,490	△ 73,510	
医薬品試験	160,000	86,490	△ 73,510	
試験開発研究費	28,000	62,100	34,100	
創薬研究開発センター費	132,000	24,390	△ 107,610	
財産収入	1,250,000	1,520,598	270,598	
財産運用収入		34,430	34,430	
財産貸付収入		34,430	34,430	
一般財源事業		34,430	34,430	
財産売払収入	1,250,000	1,486,168	236,168	
生産物売払収入	1,250,000	1,486,168	236,168	
薬用植物指導センター	1,250,000	1,486,168	236,168	
薬用植物指導センター費	1,250,000	1,486,168	236,168	
諸収入	2,580,000	5,303,503	2,723,503	
受託事業収入	2,430,000	5,102,200	2,672,200	
薬事研究所受託収入	2,430,000	5,102,200	2,672,200	
薬事研究所受託事業	2,430,000	5,102,200	2,672,200	
試験開発研究費	2,430,000	5,102,200	2,672,200	
雑入	150,000	201,303	51,303	
雑入	150,000	201,303	51,303	
雑入	150,000	201,303	51,303	
試験開発研究費	150,000	142,500		
一般財源事業		58,803	58,803	
計	14,264,000	16,559,931	2,295,931	

(3) 令和7年度歳出決算

款 項 目 節				決算額	備 考
総 務 費	総務管理費	人事管理費	報償費	426,900	
			旅費	426,900	
			財産管理費	64,460	
			役務費	20,000	
民 生 費	社会福祉費	社会福祉総務費	需用費	44,460	
			委託料	362,440	
				362,440	
				3,730,622	
衛 生 費	薬 務 費	薬務総務費	旅費	3,730,622	
			薬品取締費	3,730,622	
			報酬	3,730,622	
			職員手当等	193,000	
			共済費	3,537,622	
			旅費	161,815,367	
			需用費	161,815,367	
			役務費	35,260	
			委託料	35,260	
			使用料及び賃借料	11,600,775	
			事業振興費	2,406,000	
			需用費	781,001	
			役務費	12,003	
			委託料	175,320	
			負担金補助及び交付金	3,996,683	
			薬事総合研究開発センター費	2,467,788	
			報酬	1,164,020	
			職員手当等	597,960	
			共済費	18,667,709	
			報償費	12,284,248	
			旅費	670,000	
			需用費	5,695,461	
			諸費	18,000	
			役務費	131,511,623	
			委託料	20,986,034	
			使用料及び賃借料	5,785,797	
			原材料費	1,101,312	
			備品購入費	56,000	
			負担金補助及び交付金	3,316,600	
			公課費	40,238,118	
				12,624	
				9,924,160	
				46,143,333	
				925,910	
				70,060	
				2,836,625	
				106,250	
				8,800	
				183,520	
				183,520	
				183,520	
				33,520	
				150,000	
				3,106,914	
				3,106,914	
				3,106,914	
				3,106,914	
				48,000	
				53,903	
				1,605,011	
				400,000	
				1,000,000	
合 計				169,263,323	

8. 備 品

(最近15年・取得価格100万円以上)

品 名	取得年月日	数量	型 式
ガスクロマトグラフ用ワークステーション	23. 6. 6	1	島津製作所 GC solution
自動細胞分析装置	23. 7.14	1	日本ベクトンディッキンソン BD FACSCanto™ II フローサイトメーター
試作用錠剤フィルムコーティング装置	24. 1.30	1	フロイント産業 ハイコーターラボHC-LABO
口腔内崩壊錠試験器	24.11.21	1	富山産業 ODT-101
乾式造粒機	26. 2.13	1	フロイント産業 ローラーコンパクター TF-LABO
レーザー回折式粒子径分布測定装置	27. 2.18	1	島津製作所 SALD-2300
味覚試験装置	27. 2.20	1	インテリジェント・センサー・テクノロジー TS-5000Z
In vivoイメージング装置	27. 2.24	1	パーキンエルマー IVIS Lnmina III
共焦点レーザー顕微鏡	27. 2.26	1	ニコン C2+
ガスクロマトグラフ	27. 2.26	1	島津製作所 GC-2014AF/SPL
ヘッドスペース分析システム	27. 2.26	1	島津製作所 GC-2010Plus HS-20
分子間相互作用解析装置	27. 6.29	1	GEヘルスケア・ジャパン Biacore T200
半自動型PTP包装機	27. 7.31	1	大和化成工業 K-200KS-DK
施光計	28. 3.18	1	日本分光 P-2200
原子吸光分光光度計	28. 3.29	1	島津製作所 AA-7000 フレーム/ファーンズ フルシステム
スクリー型押出造粒機	28.10.28	1	ダルトン マルチグランMG-55型
マルチチップ杵及び臼	28.10.31	1	ファーマシン
複合型流動層造粒コーティング装置	28.12.16	1	パウレック マルチブレックスFD-MP-01型
多機能超高速液体クロマトグラフシステム	29. 3.10	1	ウォーターズACQUITY UPLC H-CLASS Bioシステム
真空凍結乾燥機	29. 8.22	1	朝日ライフサイエンス FZ-18/ STD型
高速細胞ソーター	29. 9.15	1	日本ベクトン・ディッキンソン BD FACSAria™IIIセルソーター
CCDカメラタイプ画像解析装置	30. 2.15	1	エムエス機器 FUSION-FX 7, EDGE
液体クロマトグラフタンデム四重極質量分析計 (LC-MS / MS)	30. 3.16	1	日本ウォーターズ Xevo TQ-XS
安全キャビネット	30. 3.16	1	ESCO WY-ESC-AC 2 -6 N7
マイクロ天秤	30. 3.19	1	メトラー・トレド XPR 6 UD 5 V
大型オートクレーブ	30. 3.22	1	ウドノ医機 UH68-U10H-D-M
飛行時間型質量分析計ハイブリッド型液体クロマトグラフ高分解性能質量分析システム	30. 3.22	1	ブルカー・ダルトニクス MAXIS
誘導結合プラズマ質量分析計 (ICP-MS)	30. 3.22	1	アジレント・テクノロジー Agilent 7900/ Multiwave PRO
マイクロ冷却遠心機	30. 3.22	1	トミー精工 MX-307
セミマイクロ天秤	30. 7.26	1	ザルトリウス・ジャパン MSA225S-000-DI
自動融点測定装置	30. 8.22	1	スタンフォードリサーチシステムズ MPA-100
キャピラリー電気泳動システム	30. 8.23	1	エービー・サイエックス PA800 plus
顕微赤外分光光度計システム	30.10.19	1	日本分光 FT / IR-6600, IRT-5200
超遠心分離機	31. 1.11	1	ベックマン・コールター OptimaMAX-XP
卓上型電子顕微鏡	31. 3.15	1	日立テクノロジーズ TM4000plus

品名	取得年月日	数量	型 式
圧縮特性評価装置	31. 3.27	1	日本バリデーションテクノロジーズ GTP-2
比表面積測定装置	31. 3.27	1	マイクロトラック・ベル BELSORP-miniX-SP
貼付剤試作機	31. 3.28	1	コスメディ製薬 TransCoat SM15
試作用真空乳化機	31. 3.29	1	プライミクス アジホモミクサー2M-2/5
容器回転式混合機	31. 3.29	1	徳寿工作所 容器着脱式回転混合機TCV-5
プロテオーム解析用高精度質量分析システム	1. 9.19	1	サーモフィッシャーサイエンティフィック
LC-MS専用ナノHPLC	1. 9.19	1	エーエムアール
卓上型粉砕機	2. 1.30	1	ホソカワミクロン MA013006305-007-1
個別換気飼育システム	2. 3. 9	1	77180AWR / KN-734-X1
固形連続生産システム	2. 3.12	1	フロイント産業 GF-labo
超低温冷凍庫	2. 7.20	1	日本フリーザー CLN-70CW
液体クロマトグラフ	3. 3.17	1	日本ウォーターズ Alliance HPLC Systems
サンプル密閉式超音波破碎装置	3. 9. 8	1	ソニック・バイオ BR2012A
エンドトキシン測定器	4. 1. 6	1	チャールス・リバー CES-PTS150NW0400K
プレートリーダー	4.11.18	1	サーモフィッシャー Multiskan SkyHigh TD
リアルタイムPCRシステム	5. 1.10	1	バイオ・ラッド リアルタイムPCRシステム
溶出試験器	5.10.26	1	富山産業 NTR-6600A
凍結切片作製装置	5.10.27	1	ライカマイクロシステムズ CM1860UV
冷却遠心機	7.10. 9	1	トミー精工 AX-521
液体クロマトグラフ飛行時間型質量分析計付属解析用PC	7.10.27	1	BRUKER BioPharmaCompass サーバースystemアカデミック

B. 薬用植物指導センター

1. 沿革

- 昭和42年4月 富山県薬草園が設置される（中新川郡上市町広野）
昭和42年10月 庁舎が建設される
昭和45年10月 調製加工棟が建設される
昭和55年4月 富山県薬事研究所の付設機関となる
昭和58年4月 富山県薬用植物指導センターに改称される
昭和62年3月 本館とガラスハウスが建設される
昭和63年10月 薬草標本園が整備される
平成8年3月 薬草標本園の見学路の拡充およびボタン園の排水工事を完了する
平成10年3月 駐車場の新設およびハーブ園の移設ならびに案内看板の設置
平成11年6月 温室の新設
平成14年3月 薬草標本園見学路の舗装
平成22年3月 シャクヤク園通路の木タイル舗装
平成30年4月 薬事総合研究開発センター薬用植物指導センターの体制となる
平成31年3月 栽培技術，生薬生産技術，座学の3研修エリアを備えた新研修棟の整備

2. 位置・交通

富山県中新川郡上市町広野2732

北緯 36° 43′ 東経 137° 23′ 標高 62 m

富山地方鉄道本線上市駅から3.5 km

北陸自動車道立山I.C.から7.5 km，滑川I.C.から4.5 km，上市スマートI.C.から4.2 km

3. 土地 敷地面積 43,050 m²

4. 建物

庁舎（管理・研修棟）	鉄筋造平屋	899.33 m ²
育苗ガラスハウス	鉄筋造平屋	132.30 m ²
温室	鉄筋造平屋	213.37 m ²
ボイラー室	鉄筋造平屋	15.94 m ²
計		1,260.94m ²

5. 主要備品

品名	取得年月日	数量	型式
薬草洗浄機	H 1.10.31	1	住吉工業
トラクター	H 3. 5.29	1	ヤンマー F395D
管理機	H 5. 6.20	1	ヤンマー PST60V
蒸留水製造装置	H 8. 6.11	1	岩城硝子ASK-2DS
温度勾配恒温器	H11. 7. 1	1	日本医化器械TG-100ADCT
試料粉碎機	H11. 7. 1	1	アクタックサイクロテック-1093
冷凍庫	H24. 9. 6	1	ホシザキ電機HF-120ZT3
分光色差計	H27. 6.16	1	日本電色工業NF555
トラクター	H28. 3.18	1	クボタSL41CQMANWF8C
温湯処理機	H28. 7.21	1	タイガーカワシマYS-501M
管理機	H31. 1.15	1	ヤンマー YK750RK-LM4・HK
生薬原料洗浄機	H31. 3.14	1	タニザキ鉄工
掘り取り機	H31. 3.15	1	川辺農研産業製 バイブロスーパードライヤー
平型乾燥機	H31. 3.19	1	大紀産業 平型乾燥機HK-200-3.3C
減圧乾燥機	H31. 3.22	1	日本バイオコン 減圧乾燥機IBS-1223
自走式動力噴霧機	R 1. 7.26	1	やまびこ 共立キャリー動噴 VSC457
クローラ運搬車	R 2. 2. 4	1	やまびこ NKCG150D-LBV
定寸切り機	R 4. 8. 5	1	共栄エンジニアリング KKS-520エアーコンプレッサー
フリーザー	R 5. 2. 8	1	日本フリーザー(株) GS-5210HC
播種機	R 6. 5.23	1	アグリテクノサーチ FPZ-10

Ⅱ 薬事総合研究開発センターこの一年

1. 各センターの取り組み

創薬研究開発センター

センター長 相川 幸彦

当センターでは、*in vitro*から*in vivo*まで、様々な研究目的、研究手法に対応できる機器、環境並びに技術／経験を駆使し、創薬・育薬研究並びに技術支援を行っている。くすりコンソ事業からの2つのプロジェクトを引き続き推進し、プロテオーム解析技術の展開も図っている。更に、新規研究開発事業に採択されたテーマ「創薬シーズによる新規医薬品の開発」に挑戦している。

【創薬・育薬研究】令和7年度は、下記のテーマに取り組んだ。

- 1) 経鼻ワクチンの実用化とウイルス感染の予防に向けた研究: 粘膜免疫応答に有効な新規アジュバント（免疫賦活剤）の実用化に向けた研究・開発を継続している。BioJapan2025, 関西バイオビジネスマッチング2025にて紹介、数社と面談を行うなど、渉外活動を展開している。
- 2) Isoliquiritigenin高含有甘草エキスの機能性表示食品開発に向けた研究: エキス錠剤の作製及び機能性関与成分等の安定性試験を実施し、健常人を対象とした安全性試験を実施した。製品開発企業へのプロモーション活動を進めている。
- 3) 創薬シーズによる新規医薬品の開発: くすりコンソ事業における研究開発事業に採択され、対症療法ではなく、疾患そのものの改善・治癒が可能な新たな医薬品の提供を目標に進めている。
- 4) プロテオーム解析基盤の構築_創薬研究開発の県内振興を目指して: Orbitrap Fusion Lumos Tribid質量分析装置を用いたプロテオーム解析法の利用促進に努めた。企業利用への技術支援、大学との共同研究での利用により、解析対象の幅を広げた。企業との共同研究を行い、生物部会の活動としても使用し、利用経験を増やしてきた。
- 5) バイオ医薬品の創出に係る新規技術の構築 —抗原特異的抗体産生細胞の単離とクローニング—: 引き続き、抗体医薬品の開発に繋がる抗体取得技術の構築と様々なバイオ技術を習得すべく、抗体遺伝子のクローニングや発現系の確立を進めている。
- 6) 科研費等の外部資金による課題（2テーマ）: 各研究において、新たな研究技術並びに知見の習得に取り組み、継続的に研究スキルの向上を図っている。
- 7) 高付加価値医薬品創薬支援: これまでの研究成果から取得した薬効解析データや解析技術の提供などを通して、高付加価値医薬品の開発や創薬・育薬研究を支援すべく進めている。
- 8) 研究交流活動、等: ネクスト・ファーマ・エンジニア養成コース（富山くすりコンソ人材育成事業）において、講義（オンデマンド）を担当した（感染・非感染症の免疫機構と創薬／渡邊主任研究員、慢性炎症と生活習慣病／本田製剤研究課長、実用化を目指した開発研究への取り組み－新規粘膜アジュバント－/相川センター長）。

【技術支援業務など】

- ・薬事研究会生物部会では、「プロテオーム解析手法によるタンパク質の網羅的相対定量の実践: 創傷治癒モデルマウスを用いた治癒過程のタンパク質発現変化の解析」を実施した（本誌 研究報告に掲載 渡邊主任研究員）。

製剤開発支援センター

センター長 小笠原 勝

◆製剤・分析技術支援

当センターでは、県内製薬メーカーにおける製剤開発や医薬品の品質評価・規制対応に関する技術支援を行っている。今年度、製剤機器は、年間554件、延べ2151時間ご利用いただいた。利用頻度はロータリー式打錠機が最も多く（66件、269時間）、その他、錠剤硬度計（56件、227時間）、攪拌造粒機（54件、196時間）、整粒機（49件、130時間）、複合型流動層造粒コーティング装置（47件、221時間）、比表面積測定装置（45件、264時間）、レーザー回折式粒子径分布測定装置（42件、109時間）、卓上走査型電子顕微鏡（25件、82時間）、圧縮特性評価装置（18件、87時間）も多くの方々にご利用いただいた。また、製剤開発の世界的な将来動向を見据え導入した造粒乾燥連続装置については、昨年度に引き続き富山県薬事研究会製剤部会において県内製薬メーカー7社8名と「連続生産方式による医薬品製造法の検討－スケールアップ時における製剤品質の一貫性確保の検証2－」をテーマに共同研究に取り組んだ。ラボスケールで作成したデザインスペースが、スケールアップ時においても適用できることを明らかにした。今後も製剤技術者の知識・経験の蓄積に向け継続して取り組みを進める。

医薬品の品質評価・規制対応に関する支援においては、医薬品の容器包装などから溶出する化学物質に関するガイドライン（ICH Q3E）への対応支援を目指し取り組みを本格的に開始した。当該ガイドラインは2027年にステップ4（最終合意）に到達予定であることから、近い将来、国内においても当該規制への対応が求められると予想される。容器包装の抽出液には多数の化合物が含まれると想定されるため、一つ一つ分析してはリスク評価に膨大な時間を要する。当センターでは、飛行時間型質量分析計を用いて容器包装の抽出液などに含まれる化合物の精密質量を網羅的に分析し、公開されている化合物情報と紐づけたデータベースの構築に着手した。今後、データベースの充実を図り、県内メーカー等に活用していただけるよう取り組みを進める。ニトロソアミン原薬関連不純物（NDSRIs）の分析法の構築に関する共同研究を、富山県薬事研究会分析部会の県内製薬メーカー10社16名と実施した。原薬のニトロソ化処理により得られた反応物について、飛行時間型質量分析計から得られた精密質量とMS/MSフラグメント解析によりNDSRIsを推定した。得られた一連のデータはNDSRIsの推定に参考となることから、今後積極的に情報発信する。また、県内製薬メーカー15社21名と「質量分析計によるDNA反応性（変異原性）不純物分析法の構築」をテーマに共同研究に取り組んだ。ガスクロマトグラフィーによる分析手法に焦点を当て変異原性物質の分析技術力の向上を図った。

◆専門人材の育成

くすりの富山エキスパート支援事業において、製剤及び医薬品分析に関する実習を行った（滑川高校薬業科35名及び富山北部高校くすり・バイオ科73名参加）。また薬剤師のお仕事体験学習において、中学生及び高校生を対象に製剤及び医薬品分析に関する実習を行った（中学生：製剤実習15名、分析実習9名参加；高校生：製剤実習7名、分析実習6名参加）。

富山大学との連携事業として、薬学部生を対象に製剤実習あるいは製剤講義を行った（講義1回、約40名参加、実習3回、延べ約40名参加）。また、工学部大学院生のファーマ・メディカルエンジニア養成プログラムにおいて製剤講義を実施した（講義1回、約50名参加）。富山県立大学との連携事業として、医薬品工学科の学生を対象に製剤実習を実施した（実習3回、延べ約40名参

加)。その他として、高岡工芸高校の施設見学を受け入れた(11名参加)。今後も引き続き専門人材の育成に取り組んでいく。

富山県薬業連合会と連携し、製剤技術研修会を実施した(8回実施、延べ809名参加)。また、医薬品の品質管理に携わる技術者の分析技術の維持向上を目指した外部精度管理事業(分析データ信頼性確保事業)を実施した(6種の試験項目、延べ206施設参加)。当センター職員が講師となり、県内製薬メーカーの分析技術者を対象に初任者研修事業を行った(HPLCコース:5名/回、6回実施;電位差滴定装置・水分計コース:5名/回、6回実施)。また、HPLCのメンテナンス・トラブル対応をテーマにHPLC装置メーカーによる研修会を昨年度に引き続き企画実施した(島津製作所製HPLCコース:6名/回、6回実施;Waters社製HPLCコース:8名/回、2回実施)。いずれの研修会も大変好評をいただいた。今後も継続していくこととしている。その他、ガスクロマトグラフィーに関するメンテナンス講習会を実習形式で4回実施した(延べ22名参加)。また、今年度も各種分析技術講習会を実施した(2回実施、延べ98名参加)。次年度以降もWEB配信方式を取り入れ、多くの方々にご参加いただけるように工夫し、要望に沿った講習会等を企画していく。

◆研究業務

「くすりのシリコンバレー TOYAMA」創造コンソーシアム事業などを通じてこれまでに製品化した国産のミニタブレット用杵臼を用いて、高齢者用ミニタブレットに加えて、漢方薬ミニタブレットの開発を新たに開始した。高齢者用ミニタブレットについては、腸溶錠の製造条件を実験計画法により確立し、局方の規格に適合することを確認した。漢方薬ミニタブレットについては、含量均一性を担保したミニタブレット用顆粒を連続造粒機により製造するための最適条件を見出した。今後、県内製薬メーカーとの共同開発に繋がられるよう引き続き検討を進める。

甘草成分ILGを高い割合で含むように調製したILG高含有甘草エキスについて、機能性表示食品素材としての安全性を評価するため、健康な成人を対象に試験を実施した。その結果、プラセボ錠剤摂取群と比較して、エキス含有錠剤摂取群に医学的に問題となる変動が生じないことを確認した。今後、臨床試験の実施を目指し引き続き取り組みを進める。

国立医薬品食品衛生研究所遺伝子医薬部の井上部長を研究代表者とするAMED研究班「mRNAを用いた医療モダリティの品質評価及び管理に関する研究」に参画し、キャピラリー電気泳動法によりモデルmRNA医薬品の分析を実施し、完全長mRNA含有率に関する結果を報告した。今後、分析法の標準化の観点から論文化される予定である。その他、ICP-MS測定におけるキャリーオーバー低減法の構築、アルキル水銀の簡便な分析法の開発、核酸医薬品の分析法の構築を進めた。また、国立医薬品食品衛生研究所生薬部が進めている天然物医薬品の安全性評価検討班(重金属)に参画した。

◆行政関連業務

厚生労働省からの委託を受け、後発医薬品品質確保対策事業にて溶出試験を実施した。国立医薬品食品衛生研究所の製剤ワーキンググループに参画し、後発医薬品品質情報提供等推進事業を推進した。一般用医薬品の定量試験を実施した。医薬品等の地方委任品目の製造販売承認申請書の規格及び試験方法の審査を実施した。

薬用植物指導センター

センター長 竹林 憲司

◆研究活動等

＜富山シャクヤクのブランド化推進事業：県費＞

令和4年度から始まった農家産ブランドシャクヤクの収穫も、令和7年度収穫分で4年間連続となり、現在は富山県産のシャクヤクが使用されている薬用酒が流通している。

収穫が始まった頃から、夏の猛暑が人間のみならず作物に与える影響についても懸念されてきたが、この間もシャクヤクは途絶えることなく収穫できている。また、令和7年秋には全国的に熊の出没が頻発し、秋の収穫の季節には、熊対策も重なり多忙を極めた。薬用植物指導センターの位置する中山間地域はもともと、猪や猿などの獣害も問題となっているが、薬用植物の中でも特に獣害を受けにくい作物と言われるシャクヤクは、実際に被害が少なかった。こうしたシャクヤクの特性や富山県での「くすり」の認知度により、薬用植物栽培普及のための各種研修会への参加希望者は着実に増えてきている。薬用植物の栽培・調製加工作業を実地で学べる研修施設として平成31年に整備された新庁舎と設備を使用し、生産拡大研修会や収穫調製研修会、洗浄調製研修会を開催し、可能な限り参加者自身が実際の植物や生薬に触れ、作業体験ができるよう工夫をこらしている。

今後も、「春の粧」を安定供給できるよう関係機関と協力し、栽培・調製加工研究や技術指導にあたっていきたい。

＜栽培化に向けたシナマオウ優良株の選抜：県費＞R5～

県内でのマオウの栽培化を目標に、収量や成分含量に関する選抜基準を満たす優良株の選抜試験を継続中である。少なくとも3年連続で収穫したときの収量及び成分含量の安定性についても調査を実施している。

＜トウキ栽培の省力化に向けた播種機及び肥効調節型肥料の活用：日本医療研究開発機構（AMED）創薬基盤推進研究事業＞R5年度～

生薬としての利用以外にも葉を入浴剤として利用するなど、富山県では近年トウキの栽培を希望する農家が増えている。課題となっている作業の効率化を図るために、播種機を使用し、定植に適した苗の生産性を指標に播種条件について検討している。令和7年度は、前年に生産性が高かった条件の年次変動を調査した。また、慣行法より大幅に作業時間が短縮できることを確認した。

＜トウキ育苗における追肥の影響調査：科学研究費助成事業（科学研究助成基金助成金）基盤研究C＞R6年度～

トウキ育苗における追肥が苗の生育と定植後の生育に及ぼす影響を明らかにするため、追肥試験区から得た苗を用いて栽培したときの生育を調査し、対照区と比較した。

＜持続可能な薬用植物の生産基盤技術開発及び産地形成に関する研究：日本医療研究開発機構（AMED）創薬基盤推進研究事業 ※研究参加者として参加＞

- ・医薬基盤・健康・栄養研究所作製シャクヤク培養苗の圃場栽培
交配、採種実験、定植後の生育調査を実施した。
- ・センブリ組織培養－圃場ハイブリッド栽培と早期抽苔法の確立
圃場提供と定植後の管理

2 . 視察・取材等

A. 創薬研究開発センター・製剤開発支援センター

8月20日	(株) ロキグループ 視察
9月27日	富山薬窓会富山・石川合同支部 視察
1月14日	奈良県薬務主管課職員 視察
2月19日	佐賀県首都圏本部職員 視察
3月3日	バーゼルからの派遣学生 訪問

B. 薬用植物指導センター

5月9日	富山県経営管理部長視察
5月15日	富山県副知事及び上市町長視察
5月18日	朝日新聞取材
5月19日	北日本新聞取材
5月20日	富山テレビ放送取材
5月20日	ケーブルテレビNet 3 取材
7月3日	山形大学視察
11月25日	富山大学視察
12月2日	福岡県農山漁村振興課及び第一薬科大学視察

Ⅲ 研 究 活 動

1. 競争的外部資金等を活用した研究課題

(1) 科学研究費補助金（文部科学省）

研 究 課 題	研 究 者 名
新規のパーキンソン病モデル酵母を用いた病因遺伝子の機能解析と創薬への応用 (学術研究助成基金助成金) (基盤C, 代表者)	小島理恵子
酪酸の標的であるHDACアイソザイムによる腸炎抑制機構の解明 (学術研究助成基金助成金) (基盤B, 研究代表者: 古澤之裕)	渡邊康春 (富山県立大学との共同研究)
多階層オミクス解析による低温プラズマ誘発細胞死のシグナル伝達機構解明 (学術研究助成基金助成金) (挑戦的研究 (萌芽), 研究代表者: 古澤之裕)	渡邊康春 (富山県立大学との共同研究)
セリ科三生薬の生産に関する日本固有の知識・技術の検証と最適化 (学術研究助成基金助成金) (基盤C, 研究代表者: 渥美聡孝)	田村隆幸 (九州医療科学大学との共同研究)
腸内細菌によるILC 2 のIL-5 産生抑制を基軸とした好酸球制御メカニズムの解明 (学術研究助成基金助成金) (基盤C, 研究代表者: 柳橋努)	柳橋努, 柚木芳
固体試料中に含まれる水銀の化学形態別分析法の確立 (学術研究助成基金助成金) (若手研究, 研究代表者: 高山信幸)	高山信幸

(2) その他の研究補助金

研 究 課 題	研 究 者 名
分担課題: 栽培技術の基盤整備 (トウキ栽培の体系化) { 日本医療研究開発機構 (AMED) 創薬基盤推進研究事業 薬用植物の産地拡大に向けた生産技術の開発研究 研究開発代表者: 菱田敦之	田村隆幸, 山田宗孝, 渡会三千代, 東一彦 (東京農業大学等との共同研究)
新規粘膜アジュバントの作用機序解析 (R7 年度フロンティア研究推進事業)	相川幸彦, 南谷武春, 柳橋努, 渡邊康春, 柚木芳 (富山県立大との共同研究)

2. 「くすりのシリコンバレー TOYAMA」創造コンソーシアム 研究開発事業

研 究 課 題	研 究 者 名
経鼻投与ワクチンの実用化とウイルス感染予防に向けた研究 (高齢者に有効なワクチンの開発)	合田幸広, 高津聖志, 相川幸彦, 渡邊康春, 柳橋努, 南谷武春, 本田裕恵, 小島理恵子, 柚木芳, 小林直人 (富山県立大学との共同研究)
免疫代謝の調節による生活習慣病の予防研究 (イソリクイリチゲニンと関連物質による糖尿病予防効果)	合田幸広, 高津聖志, 相川幸彦, 本田裕恵 (企業, 富山県立大学との共同研究)
創薬シーズによる新規医薬品の開発	合田幸広, 相川幸彦, 南谷武春, 渡邊康春, 柳橋努, 本田裕恵, 柚木芳, 小林直人, 浅井直子 (富山県立大学との共同研究)

3. 上記以外の研究課題

研 究 課 題	研 究 者 名
富山シャクヤクのブランド化推進事業	合田幸広, 渡会三千代, 山田宗孝, 田村隆幸, 高山信幸, 小笠原勝, 東一彦
プロテオーム解析手法によるタンパク質の網羅的相対定量の実践 —創傷治癒モデルマウスを用いた治癒過程のタンパク質発現変化の解析—	渡邊康春, 小島理恵子 南谷武春, 柳橋努, 相川幸彦 (薬事研究会生物部会)
製剤開発に関する研究 1. 飲みやすい小児用ミニタブレットの開発 2. 連続生産方式による医薬品製造法の検討	永井秀昌, 林正幸, 本田裕恵, 小林直人
医薬品の品質評価等に関する研究 1. 後発医薬品の品質評価事業 (厚生労働省委託事業) 2. 県内医薬品製造業者の分析データ信頼性確保事業 3. ICP-MS測定におけるキャリーオーバー低減法の構築 4. 質量分析計によるDNA反応性 (変異原性) 不純物分析法の構築 5. 核酸医薬品分析に関わる基盤技術構築に向けた検討 6. 医薬品容器包装に由来する不純物の分析方法の検討とデータベースの構築	米田哲也, 高山信幸, 柚木芳, 小笠原勝
mRNAを用いた医療モダリティの品質評価及び管理に関する研究 —キャピラリーゲル電気泳動法を用いたmRNAの安定性に関する検討—	小笠原勝 (国立医薬品食品衛生 研究所との共同研究)
栽培化に向けたシナマオウ優良株の選抜	田村隆幸, 高山信幸, 山田宗孝, 渡会三千代, 東一彦, 小笠原勝, 合田幸広
プロテオーム解析基盤の構築: 創薬研究開発の県内振興を目指して	小島理恵子, 渡邊康春, 南谷武春, 相川幸彦
バイオ医薬品の創出に係る新規技術の構築 —抗原特異的抗体産生細胞の単離とクローニング—	南谷武春, 柳橋努, 渡邊康春, 小島理恵子, 相川幸彦
次世代アレルギー免疫療法の基盤構築	柳橋努, 南谷武春, 渡邊康春, 小島理恵子, 本田裕恵, 柚木芳, 相川幸彦
テープストリッピングによる角層プロテオーム解析法を用いたヒト角層タンパク質の加齢に伴う発現変化の解析	渡邊康春, 小島理恵子, 南谷武春, 小林直人, 相川幸彦 (企業との共同研究)

研 究 業 績

IV 研 究 報 告

2 軸スクリー型造粒におけるデザインスペースの構築（第 4 報） —長時間運転とスケールアップの検討—

永井 秀昌, 本田 裕恵, 林 正幸, 薬事研究会製剤部会

Development of Design Space in Twin-screw Type Granulation (Fourth Report): Considerations for Long-Term Operation and Scaling Up

Hidemasa NAGAI, Hiroe HONDA, Masayuki HAYASHI,
The Drug Formulation Study Group in Toyama Pharmaceutical Research Association

要 旨

連続生産は従来のバッチ生産で行われていた製造工程毎に区切りながら生産する方法とは異なり、工程間を切れ目無く連続的に生産する方法であり、世界中で導入が進められている。当センターに設置された連続造粒装置では 2 軸スクリー型造粒と気流乾燥法が採用されており、従来のバッチ生産で汎用されている流動層造粒法とは異なる造粒機構である。我々は連続生産技術の導入促進を目指し、これまでにプロセス解析工学（PAT）を用いた品質管理法の習得や連続生産の管理戦略の構築に必須となるデザインスペースの作成を実施した。今回は、これまでに構築した連続造粒時のデザインスペースについて、実生産を想定した長時間運転条件やスケールアップ条件下においても適用可能であるか検証した。その結果、5 時間連続運転時および実生産機を用いた場合においても構築したデザインスペースが適用できることが確認され、実生産時においても目標とする品質の錠剤を連続生産できる可能性が示された。

Summary

Continuous manufacturing is a method of continuously producing without a break between the processes, unlike batch manufacturing, and is being introduced worldwide. The continuous granulation system installed in our institute uses a twin-screw type of granulation and a spiral drying system, which is a different granulation mechanism from the fluidized-bed granulation method commonly used in conventional batch manufacturing. Aiming to promote the introduction of continuous manufacturing technology, we have so far learned quality control methods using Process Analytical Technology (PAT) and created a design space, which is essential for the construction of a management strategy for continuous manufacturing. In the present study, we verified the relevance of the design space developed at a laboratory scale for continuous granulation to the production ones. First, by using a Gf-105 continuous granulator, a smaller-scale machine that was the same as a laboratory scale, we examined long-term operation under the conditions established in the earlier report. After requirement analysis for particle average diameter and moisture content, the products under the 5-hour continuous operation showed desired values at viewpoints of tablet hardness (not less than 40N) and disintegration time (not more than 60 sec). Next, we used a Gf-215 continuous granulator: a production-scale machine, and the product obtained at the highest speed (15 kg/h) under two conditions (25% and 28% moisture content) met the desired values noted above. These results suggest that the continuous production of tablets with the desired values is possible under production scales.

キーワード：連続生産, 2 軸スクリー, デザインスペース, スケールアップ, プロセス解析工学 (PAT)

Key words：Continuous manufacturing, Twin-screw, Design Space, Scale-up, PAT

緒 言

連続生産は従来のバッチ生産で行われていた製造工程毎に区切りながら生産する方法とは異なり、工程間を切れ目無く連続的に生産する方法である。近年、連続生産は PMDA や FDA を含め、規制当局が導入を積極的にサポートしており¹⁾、2022 年 11 月 16 日付で ICH（医薬品規制調和国際会議）による合意事項とし

て、「原薬及び製剤の連続生産（ICH Q13）」が採択され、2023 年 5 月には厚生労働省より「原薬及び製剤の連続生産に関するガイドラインについて」が通知された（ステップ 5 に到達）。連続生産技術は医薬品の製造・流通の仕組みに革新を起こす技術であることから、将来的には医薬品製造のスタンダードになると考

えられる。今後、国内・海外大手製薬企業が連続生産技術を導入した場合、県内企業が連続生産での製造を受託するためには、連続生産技術に対し、事前に経験を積んでいることが必要となる。連続生産の造粒部分で多く用いられる2軸スクリーは、これまでのバッチ生産で用いられている造粒法とは異なる造粒機構であり、乾燥機構には特殊な気流乾燥が採用されている場合もある²⁾。このため、従来の造粒法や乾燥法との相違点を確認し、連続生産に特徴的な処方特性やパラメータを明らかにすることが今後の連続生産への移行に必要となる。我々は、当センターに導入された、連続生産に特徴的な機構（2軸スクリーによる造粒と気流乾燥）を有す造粒乾燥連続装置を用い、県内企業に先駆けて、製剤開発法やプロセス解析工学

（PAT）を用いた品質管理法の確立を目指し研究を行ってきた。これまでに、モデル処方による各種パラメータの影響を比較するとともに、バッチ式造粒機やメーカー機種別での顆粒・錠剤物性の比較結果を報告している³⁻⁵⁾。また、連続生産の管理戦略の構築に有用なデザインスペースを連続造粒中にモニタリング可能な水分量と平均粒子径を用いて構築している⁵⁻⁷⁾。そこで今回は実生産を想定し、これまで用いてきた①ラボスケール対応機（ラボ機）での長時間運転条件下および②実生産機を用いたスケールアップ条件下において、目標とする品質（錠剤硬度 40N 以上、崩壊時間 60 秒以内）の錠剤を連続製造することが可能であるかを検証した。

方 法

1. 装置

1) 造粒乾燥機

造粒乾燥連続装置（連続生産機）	
	
型式：Gf-105（フロイント産業㈱）	型式：Gf-215（フロイント産業㈱）

2) 混合機及び打錠機

a) V型大型混合機	b) ロータリー式打錠機
	
型式：NP-08K（㈱岩黒製作所）	型式：VELA5（㈱菊水製作所）

3) 物性測定機器

a) 近赤外（NIR）分光装置	b) インライン粒子径測定プローブ
	
型式：MicroNIR（VIAVI Solutions Inc）	型式：Parsum IPP 80-P （Malvern Panalytical Ltd）

c) レーザー回折式粒子径分布測定装置	d) 加熱乾燥式水分計
	
SALD-2300 (株島津製作所)	MX-50 (株エー・アンド・デイ)
e) 錠剤硬度計	f) 崩壊試験器
	
PC-30 (岡田精工(株))	NT-2HS (富山産業(株))

2. モデル処方（アセトアミノフェン 60% 処方）および滴下水量

（モデル処方）

アセトアミノフェン（微粉，八代製薬(株)）	60%
乳糖水和物（200M, DFE Pharma）	21%
トウモロコシデンプン（日澱化学(株)）	9%
低置換度ヒドロキシプロピルセルロース（LH-21, 信越化学工業(株)）	10%

（結合剤）

ヒドロキシプロピルセルロース（HPC-L, 日本曹達(株)）	3.5%（外割）
--------------------------------	----------

（滴下水量）

滴下水量は加水割合 20-30% の任意の値とした。

3. 実験手順

1) 混合および造粒

a) ラボ機（Gf-105）を用いた長時間運転実験

モデル処方 20 kg を秤量し，80 L サイズの V 型混合機（NP-08K，岩黒製作所製）に仕込み，30 分間混合を行い，造粒用混合品とした。なお，結合剤については粉末を処方と一緒に混合した（粉末添加）。次いで混合品を造粒乾燥連続装置に投入し，以下の条件で造粒を行った。

Gf-105（最大処理速度：5 kg/hr，スクリー径：φ 23 mm，乾燥部配管長さ：約 15 m，乾燥配管径：φ 47.8 mm，乾燥部常用風量：1.1-1.4 m³/min）

①造粒処理速度：2 kg/hr (33.3 g/min) の条件
2 軸スクリー回転数：66 rpm，加水割合：28%，サンプリング：運転開始 0, 1, 2, 3, 4, 5 時

間ごとに各 12 分間（約 400 g），風量：1.1 m³/min，給気温度：120℃（排気温度：60-70℃）

②造粒処理速度：3 kg/hr (50.0 g/min) の条件
2 軸スクリー回転数：100 rpm，加水割合：28%，サンプリング：運転開始 0, 1, 2, 3, 4, 5 時間ごとに各 8 分間（約 400 g），風量：1.1 m³/min，給気温度：120℃（排気温度：60-70℃）

b) 実生産機（Gf-215）を用いたスケールアップ実験（フロイント産業(株)浜松技術開発研究所にて実験）

モデル処方 30 kg について，80 L サイズの V 型混合機に仕込み，30 分間混合を行い，造粒用混合品とした（結合剤は粉末添加）。次いで混合品を造粒乾燥連続装置に投入し，以下の条件で造粒を行った。

Gf-215（最大処理速度：15 kg/hr，スクリー径：φ 23 mm，乾燥部配管長さ：約 20 m，乾燥配管径：φ 130.8 mm，乾燥部常用風量：8-10 m³/min）

造粒処理速度：15 kg/hr (250 g/min)，2 軸スクリー回転数：450 rpm，

加水割合：20, 25, 28, 30%

サンプリング時間：4 分間（約 1 kg），条件変更後の切り替え時間：6 分間

風量：8.0 m³/min，給気温度：120℃（排気温度：70-80℃）

2) 顆粒物性評価

a) オフライン測定

乾燥後の造粒物は収量を測定した後，試験用篩（φ 300 mm，目開き 1,000 μm）にて篩過し，顆

粒剤とした。その後、加熱乾燥式水分計（MX-50, (株)エー・アンド・デイ）を用いて水分量の測定を行う（設定条件：105℃，終点0.05%/min）とともに、レーザー回折式粒子径分布測定装置（SALD-2300, (株)島津製作所）を用いて粒子径（ D_{50} ）および平均粒子径を測定した。

さらに、NIRによる水分量予測モデル構築のため、水分量の異なる50種類の顆粒を調製した。各試料について、加熱乾燥式水分計により測定した水分量を参照値として用いた。取得したNIRスペクトルに対して、標準正規変量変換（Standard Normal Variate：SNV）および2次微分処理を施した後、Partial Least Squares（PLS）回帰分析により検量線を構築した。構築したPLSモデルは、 $R^2 = 0.97$, Root Mean Square Error of Calibration（RMSEC）= 0.12を示した。

b) インライン測定

NIR（MicroNIR, VIAVI Solutions Inc）を用いて連続造粒中（乾燥品）の水分量を測定した。水分量はあらかじめ作成した検量線を用いてリアルタイム予測を行った。粒子径（ D_{50} ）についてはインライン粒子径測定プローブ（Parsum IPP 80-P, Malvern Panalytical Ltd）を用いて乾燥品の測定を行った（測定時間：1分間）。

3) 打錠実験

a) 打錠処方（錠剤1錠あたり）

アセトアミノフェン 60%処方顆粒剤	345 mg/tab (99 %)
ステアリン酸マグネシウム	3.5 mg/tab (1 %)
合 計	348.5 mg/tab (100 %)

b) 打錠

造粒品を打錠処方の通り 100 g 分秤量し、ポリ袋にて3分間混合した。次に、ロータリー式打錠機を用いて以下の条件で打錠を行った。

錠剤径 ϕ 10 mm, 杵臼3本立, 1錠 348.5 mg, 硬度 50 N 程度, 打圧：10 kN, 回転盤回転数 10 rpm, オープンフィードシュー使用

4) 錠剤物性評価

錠剤硬度計（PC-30, 岡田精工(株)）を用いて硬度を測定（ $n = 20$ ）するとともに、崩壊試験器（NT-2HS, 富山産業(株)）を用いて崩壊時間を測定した（ $n = 12$ ）。

結 果

1. ラボ機を用いた長時間運転の検証

ラボ機（Gf-105）を用いて、造粒処理速度2および3 kg/hr 条件下において5時間の連続運転を行った。その際、インラインで粒子径（ D_{50} ）および水分量を測定するとともに、オフラインでサンプリングした顆粒についても粒子径（ D_{50} ）と水分量を測定した。その結果、当初の条件では運転3時間後に排気フィルターの閉塞が発生し、運転を停止した。このため、フィルター閉塞防止対策として、インライン粒子径測定装置の測定時間を短縮し、パージエアで吹き上げる微粉量を減少させることで5時間の連続運転が可能となった。また連続運転中の物性値は、インラインとサンプリング測定値でほぼ同じ傾向を示し、5時間の連続運転においても得られた顆粒はデザインスペース内（既報⁷に基づく設定範囲： D_{50} （レーザー回折式）：

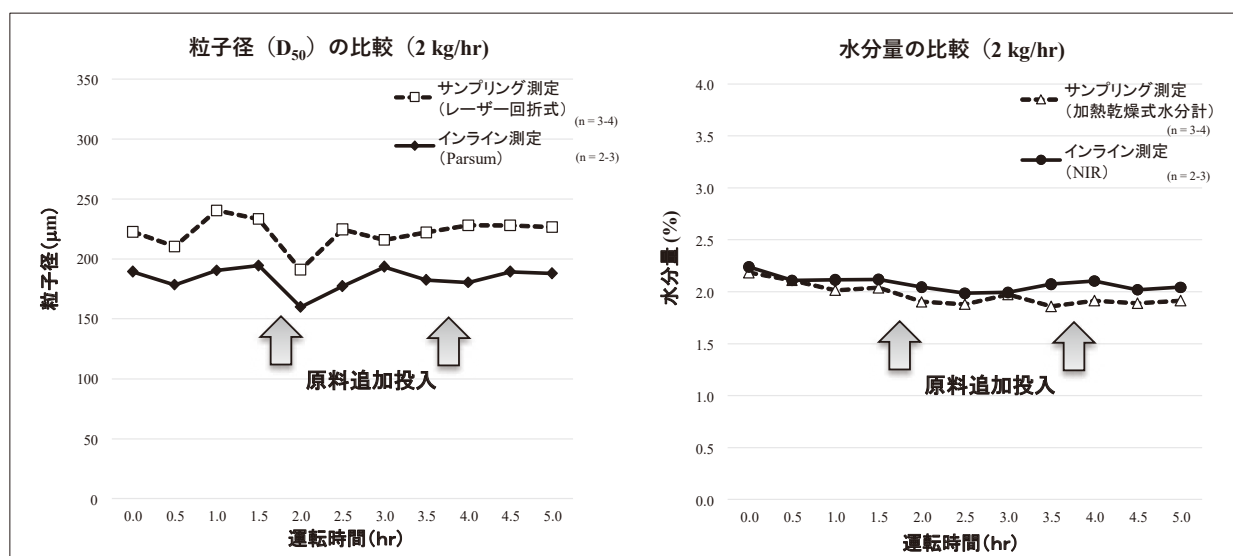


Fig. 1 長時間運転における顆粒物性（造粒処理速度：2 kg/hr）

180~250 μm , 水分量 (加熱乾燥式水分計): 1.5~2.5%) に収まっていることが確認された。また, 造粒処理速度の違いを比較すると, 2 kg/hr において

は原料を初回に追加投入したタイミングで粒子径に変動が認められたが (Fig. 1), 3 kg/hr では変動幅は小さくなった (Fig. 2)。

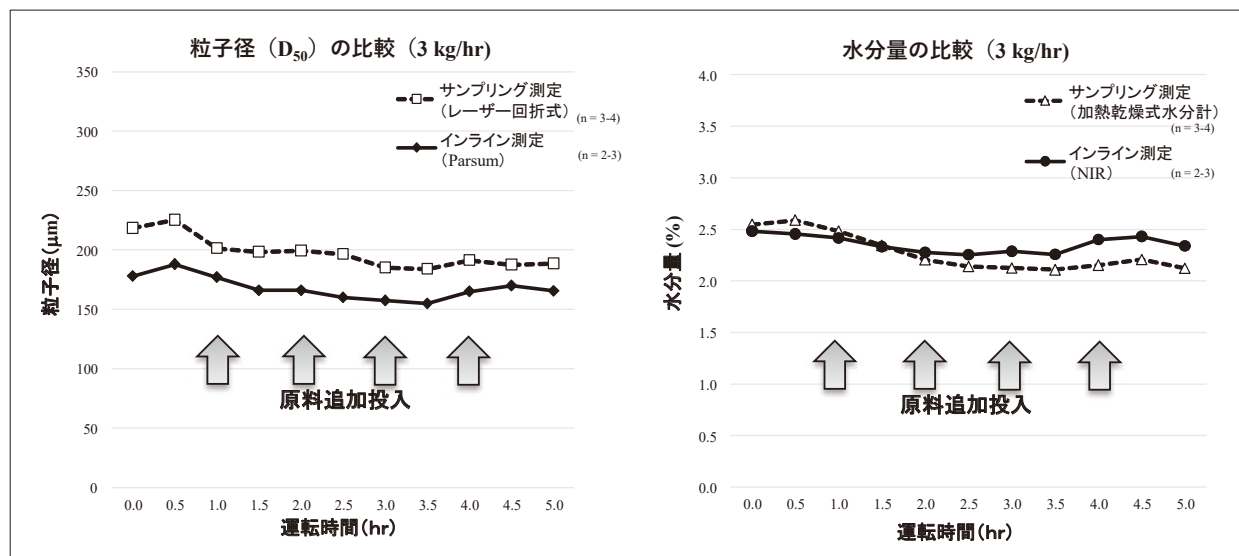


Fig. 2 長時間運転における顆粒物性 (造粒処理速度: 3 kg/hr)

2. 長時間運転時におけるデザインスペースの検証 (錠剤物性値)

令和5年度の製剤部会において構築した連続造粒時のデザインスペース (Fig. 3) について, 長時間運転条件下でも適用可能であることを検証するため, 1時間ごとにサンプリングした顆粒を用いて錠剤を試作した。錠剤物性を評価した結果, 2および3 kg/hrの両速度下において, サンプリングしたすべての運転時間における錠剤物性値の平均値は目標値 (錠剤硬度 40N 以上, 崩壊時間 60 秒以内) を満たしていた (Fig. 4)。

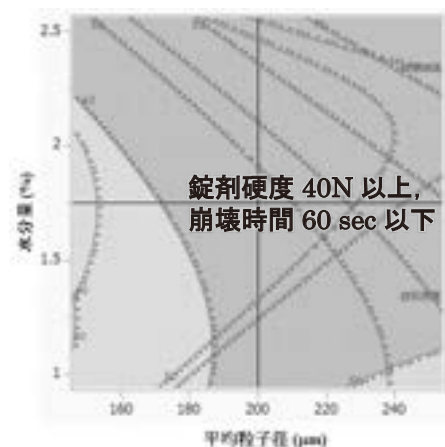


Fig. 3 連続造粒時のデザインスペース

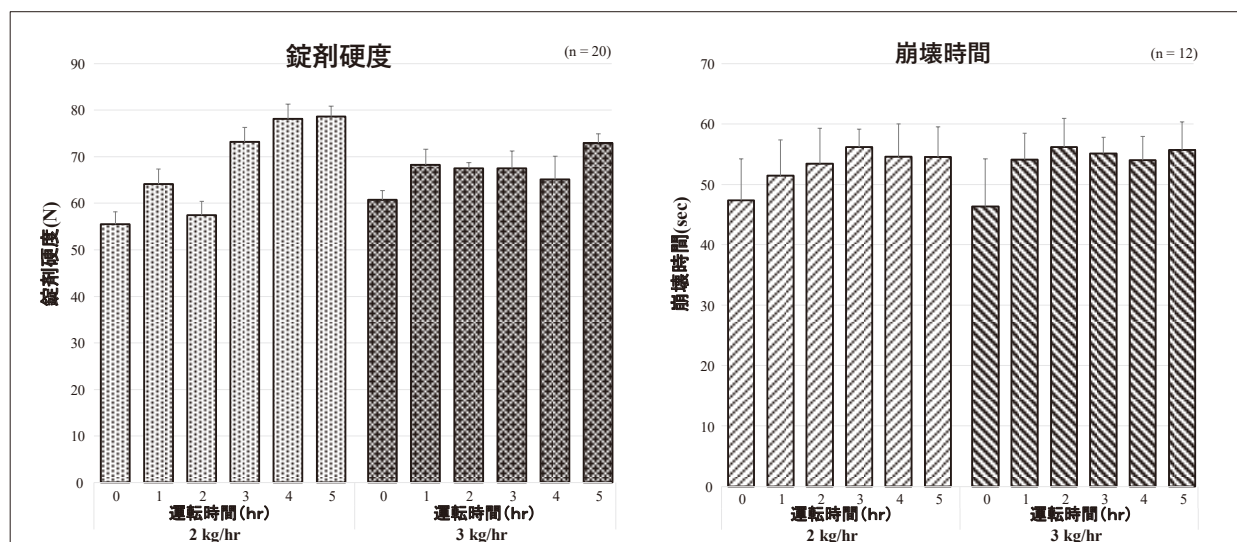


Fig. 4 長時間運転時におけるデザインスペースの検証

3. スケールアップ時におけるデザインスペースの検証

次に実生産機を用いたスケールアップ条件でもラボ機で決定したデザインスペースが適用できるかどうか検証を行った。既に、前報において実生産機（Gf-215）を使用した実験を行っているが⁸⁾、デザインスペース内に入った1条件のみの評価となったため、再検証を実施した。今回は風量を 10.0 m³/min から 8.0

m³/min に変更し、その他は同条件で検討を行った。その結果、加水割合 25 および 28% の顆粒がデザインスペース内に入っており（Fig. 5）、この顆粒について打錠後、錠剤物性を評価した結果、目標値（錠剤硬度 40N 以上、崩壊時間 60 秒以内）を満たしていることが確認された（Table 1）。

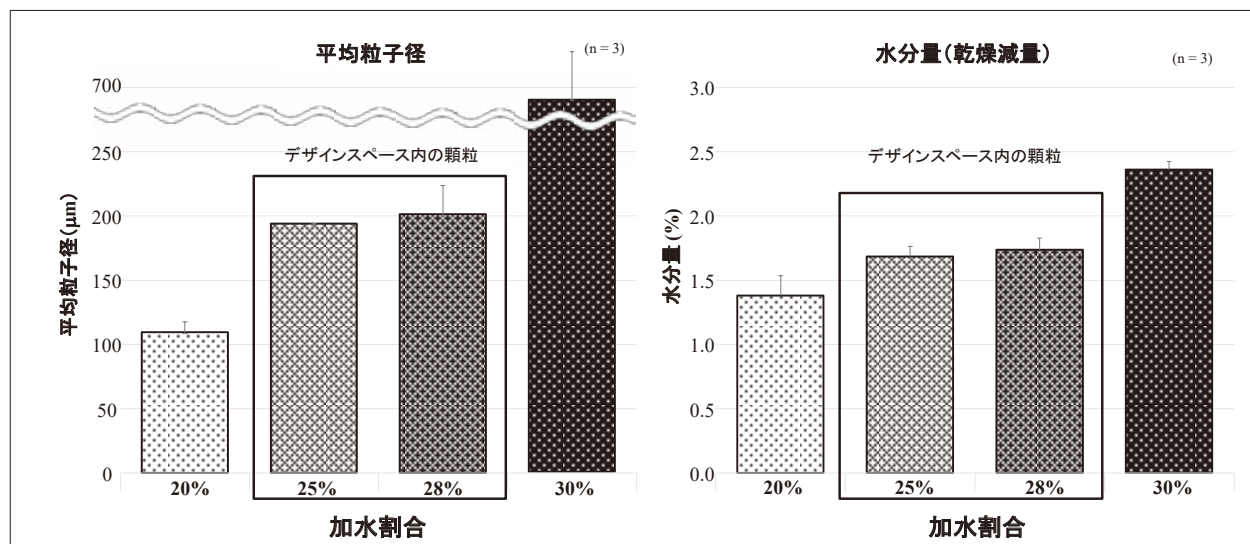


Fig. 5 スケールアップ時における顆粒物性の比較

Table 1. スケールアップ時におけるデザインスペースの検証結果

加水割合	20%	25%	28%	30%
錠剤硬度 (n = 20)	25.3N	43.1N	45.6N	65.3N
崩壊時間 (n = 12)	34.0 sec	43.9 sec	39.7 sec	50.2 sec

考 察

薬事研究会製剤部会では県内における連続生産技術の導入を促進および医薬品産業の活性化を目的として連続生産技術を用いた製剤開発に関する検討を実施している^{3,8)}。これまでの検討により、連続生産の管理戦略の構築に有用なデザインスペースについて、工程パラメータに加え、連続造粒中にモニタリング可能な水分量と平均粒子径を用いたデザインスペースを構築した。これにより、実製造においては、重要物質特性（CMA）をPATツールによりモニタリングし、フィードバック制御等を行うことにより、目標品質を満たす錠剤の安定的な製造が可能となることが示唆された。

本研究では、連続生産において想定される長時間運転条件下におけるデザインスペースの適用性について

検証を行った。その結果、造粒処理速度 2 および 3 kg/hr の条件において、経時的にサンプリングした顆粒から得られた錠剤は、硬度 40 N 以上および崩壊時間 60 秒以内という目標値をいずれも満たすことを確認した。また、PAT 機器である近赤外分光法（NIR）により測定した水分量およびインライン粒子径分布測定プローブにより取得した粒子径（D₅₀）は、オフラインでのサンプリング測定結果と良好な相関を示し、PAT を活用した品質管理の有効性が示された。さらに、初期検討段階において定量供給フィーダーの不安定な動作に起因する顆粒物性の変動が認められたが、この際にも PAT 機器により変動傾向をリアルタイムで検出可能であることが確認された。一方で、造粒処理速度の違いによる影響を比較した結果、2 kg/hr 条

件では原料追加投入時に粒子径の変動が認められ、錠剤物性においても硬度および崩壊時間の変動幅が3 kg/hr 条件と比較して大きくなる傾向が示された。この要因として、2 kg/hr 条件は定量供給フィーダーの最小供給量に相当し、低速回転時に供給が不安定となることで脈動が発生した可能性が考えられる。

また、実生産機を用いたスケールアップ実験は文献8の補足検討として実施した。その結果、デザインスペース内の2水準で調製した顆粒から、いずれも目標品質を満たす錠剤が得られ、スケールアップ時においても当該デザインスペースの適用可能性が支持された。

謝 辞

本研究の遂行にあたりご協力いただいたフロイント産業株式会社の齋藤憲一様、菅野琢磨様に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 独立行政法人医薬品医療機器総合機構 革新的製造技術 WG：日本における連続生産の最新情報，<https://www.pmda.go.jp/files/000239490.pdf> (2021)
- 2) 磯部重実：連続造粒装置 Granuformer を用いた安定生産に対する取り組み，製剤機械技術学会誌，27, 2, 136～141 (2018)
- 3) 永井秀昌，宮本朋美，明官勇雄，薬事研究会製剤部会：連続式造粒法とバッチ式造粒法との顆粒物性の比較，令和2年度富山県薬事総合研究開発センター年報，48，37～42 (2021)
- 4) 永井秀昌，宮本朋美，明官勇雄，薬事研究会製剤部会：2軸スクリー型造粒を行った際の乾燥機構の違いによる物性比較，令和3年度富山県薬事総合研究開発センター年報，49，19～24 (2022)
- 5) 永井秀昌，本田裕恵，林正幸，合田幸広，薬事研究会製剤部会：連続式湿式造粒機の機種別の物性比較，PHARM TECH JAPAN，41(10)，23～28 (2025)
- 6) 永井秀昌，本田裕恵，林正幸，薬事研究会製剤部会：2軸スクリー型造粒におけるデザインスペースの構築，令和4年度富山県薬事総合研究開発センター年報，50，19～24 (2023)
- 7) 永井秀昌，本田裕恵，林正幸，薬事研究会製剤部会：2軸スクリー型造粒におけるデザインスペースの構築（第2報），令和5年度富山県薬事総合研究開発センター年報，51，18～22 (2024)
- 8) 永井秀昌，本田裕恵，林正幸，薬事研究会製剤部会：2軸スクリー型造粒におけるデザインスペースの構築（第3報），令和6年度富山県薬事総合研究開発センター年報，52，18～23 (2025)

マウス創傷モデルにおけるシャクヤク根エキスの創傷治癒効果に関する プロテオーム解析

渡邊 康春, 小島 理恵子, 南谷 武春, 柳橋 努, 相川 幸彦, 富山県薬事研究会生物部会

Proteomic Analysis of the Wound-Healing Effects of Peony Root Extract in a Mouse Wound Model

Yasuharu WATANABE, Rieko KOJIMA, Takeharu MINAMITANI, Tsutomu YANAGIBASHI,
Yukihiko AIKAWA, and The Biological Analysis Group in Toyama Pharmaceutical Research
Association

要 旨

シャクヤク (*Paeonia lactiflora*) 根エキスは多様な生理活性を有するが, 創傷治癒における *in vivo* での作用機序は十分に明らかではない. 本研究では, マウス創傷モデルを用いてその影響を評価し, プロテオーム解析により創傷局所のタンパク質発現動態を解析した.

その結果, シャクヤク根エキス滴下により, 滴下開始日翌日の Day 1 から Day 3 において痂皮形成の促進が認められたが, Day 5 および Day 7 では創面の縮小が観察されず, 治癒遅延が示唆された. Day 1 のプロテオーム解析では, 補体系および凝固系の活性化, 脂質関連分子や抗酸化分子の増加が認められ, 免疫血栓形成を介した初期防御応答の亢進が示唆された.

以上より, シャクヤク根エキスは創傷治癒初期には防御的に作用する一方, その作用の持続または過剰により後期の修復過程に影響を及ぼす可能性が示唆された.

Summary

Peony (*Paeonia lactiflora*) root extract possesses a wide range of biological activities; however, its *in vivo* effects and the underlying mechanisms in wound healing remain incompletely understood. In this study, we evaluated the effects of peony root extract using a murine wound model and performed proteomic analysis to comprehensively characterize protein expression dynamics at the wound site. Topical application of peony extract promoted scab formation during the early phase of wound healing (Days 1-3). In contrast, no significant reduction in wound area was observed at later stages (Day 5-7), suggesting delayed wound closure. Proteomic analysis at Day 1 revealed activation of the complement and coagulation systems, along with increased expression of lipid-related and antioxidant proteins. These findings suggest the enhancement of early defensive responses mediated through immunothrombosis. Taken together, the results indicate that peony root extract exerts a protective effect during the early phase of wound healing, whereas sustained or excessive activation may impair later-stage tissue repair.

キーワード: プロテオーム解析, シャクヤク根エキス, 創傷治癒

Key words: Proteomic analysis, Peony extract, Wound healing

緒 言

タンパク質は生命現象を担う実行分子であり, その発現量は産生と分解のバランスによって規定されるとともに, 翻訳後修飾や他分子との相互作用を介して機能する. プロテオーム解析は, タンパク質の発現量のみならず, 修飾や相互作用を含めた機能的変動を網羅的に捉えることが可能であり, 生命現象を包括的に理解するための有力な手法の1つである. これまで, 病態解明, 新規治療標的やバイオマーカーの探索, さらには薬理作用機序の解析などに広く活用されてきた.

近年では, 薬理作用の分子標的の明確化が医薬品開発において重要視されている¹⁾. 薬物の作用は標的タンパク質との直接的相互作用に加え, 転写・翻訳制御や代謝経路を含む複雑な分子ネットワークを介して発現することが明らかとなっていることから, プロテオーム解析をはじめとするオミクス解析は, 薬効発現機構の解明において重要な役割を担っている.

富山県薬事総合研究開発センターでは, 創薬研究基盤の強化を目的とした取り組みの一環としてプロテ

オーム解析を実施しており、富山県薬事研究会生物部会において、シャクヤク根エキスを添加した細胞系を用いた解析により、脂質代謝およびリソソーム関連経路に關与するタンパク質群の発現変動を明らかにしている²⁾。本研究では、マウス創傷モデルにおけるシャクヤク根エキスの創傷治癒効果に注目し、プロテオーム解析による分子基盤の解明を目的とした研究を実施した。

シャクヤク根エキスは、抗炎症作用、抗ウイルス作用、抗菌作用、抗酸化作用、免疫調節作用、神経保護作用、および代謝制御作用など、多様な生理活性を有することが報告されている³⁾。さらに、皮膚に対する有益作用も知られており、ヒトを対象とした臨床試験においては、シャクヤク根エキスを含有する化粧品の使用により、顔面のしわが有意に改善することが示されている⁴⁾。また、主要成分であるペオニフロリンにはメラニン生成抑制作用が報告されており⁵⁾、シャクヤク根エキスは化粧品分野において利用されている。

創傷治癒に関しては、ヒト表皮角化細胞を用いた *in vitro* 解析において、シャクヤク根エキスが細胞の遊走および増殖を促進することが報告されており、創傷治癒促進作用が示唆されている⁶⁾。しかしながら、創傷治癒は単一細胞の応答ではなく、ケラチノサイト、免疫細胞、線維芽細胞など多様な細胞が関与し、炎症、増殖、リモデリングといった段階的過程を経て進行する高度に統合された生体反応である⁷⁾。そのため、細胞間の時空間的相互作用を含めた全体像の理解には、*in vitro* 実験系のみでは限界がある。

そこで本研究では、マウス創傷モデルを用いてシャクヤク根エキスの創傷治癒効果を *in vivo* で評価するとともに、プロテオーム解析により創傷局所におけるタンパク質発現動態を網羅的に解析した。

方 法

シャクヤク根エキスの調製

シャクヤク（品種名：春の粧）は、富山県薬用植物

指導センターで栽培し、10月から11月に収穫され、洗浄した根を乾燥したものを粉末に加工し、日本薬局方で規定されているペオニフロリン含有量の基準（2.0%以上）を満たしていることを確認した。シャクヤク末から、メタノールでエキスを抽出したものを乾燥させ、シャクヤク根エキスとした。シャクヤク根エキスを Dimethyl Sulfoxide (DMSO, FUJIFILM Wako Pure Chemical) で溶解させた後、2 mg/mL シャクヤク根エキス、0.5% DMSO、10% プロピレングリコール (Maruishi Pharmaceutical Co., Ltd.) となるように調製した。また、シャクヤク根エキスの対象 (Vehicle) として、0.5% DMSO、10% プロピレングリコールを調製した。なお、プロピレングリコールは皮膚への投与に適した粘度を持たせるために添加した。

動物実験

C57BL/6 マウスは Japan SLC より購入し、富山県薬事総合研究開発センターの動物実験施設において、特定病原体不在 (SPF) 条件下でマイクロアイソレーターケージ内にて飼育し、14 週齢で使用した。飼育は標準的な明暗サイクル (12 時間明期/12 時間暗期) で行い、水および餌は自由摂取とした。

本試験では、生検トレビンによるマウス創傷治癒モデルを用いた⁸⁾。ケタミン (100 mg/kg)/キシラジン (10 mg/kg) 混合麻酔を腹腔内投与後、背部の毛を小動物用バリカンでカットし、除毛クリーム (市販品) を塗布して毛を完全に除去した。生検トレビン (先端径 4 mm) を用いて背部の皮膚を除去し、創傷部位を 4 か所作製した。

上記マウス 15 匹にシャクヤク根エキス 20 μ g を創傷部位に 3 日間 1 日 1 回 10 μ L 滴下した (図 1)。Vehicle として DMSO を最終濃度 0.5% となるよう同様に滴下した。3 日間、12 時間ごとにブプレノルフィン (Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd.) を 0.05 mg/kg で 100 μ L 皮下投与し痛みを軽減させた。創傷 1 日または 3 日目に予備マウスを含めて 5 匹ずつ頸椎脱臼に

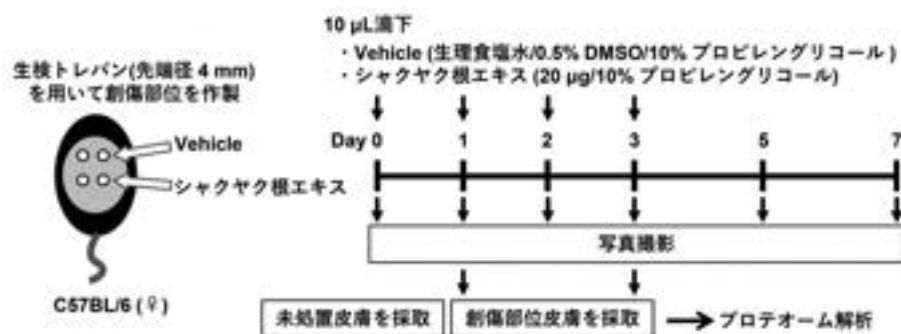


図1 実験スキーム

より安楽死後、背部皮膚を剥離し、トリミングした創傷部位の皮膚をサンプルとして-80℃で保存した。シャクヤク根エキスまたはVehicleを滴下したそれぞれ2か所の皮膚サンプルは、1つはプロテオーム解析を実施し、もう1つは予備として保存した。また対象として、除毛後創傷を与えていないマウス3匹から背部皮膚を採取し未処置サンプルとした。

本研究で実施した動物実験は、富山県薬事総合研究開発センター動物実験委員会の審査後所長の承認を得て実施した。

サンプル調製

採取した皮膚に、Protease inhibitor Complete (Roche) を含む5% Sodium Dodecyl Sulfate (SDS, Nacalai tesque) を300 µL 加え、破砕用ビーズを充填したチューブ (Precellys lysing kit CKmix, Bertin Technologies) とビーズ破砕機 (Minilys, Bertin Technologies) を用いてホモジナイズ (High Speed 20秒) を3回行った。その後、超音波破砕機 (BIORUPTOR II, Sonicbio) を用いて4℃に冷却しながら超音波処理し (High出力, 30 secを15 cycles), 95℃で5分加温しサンプルとした。タンパク質濃度はBCAアッセイ (Pierce BCA Protein Assay Kit, Thermo Fisher Scientific) により定量した。

タンパク質20 µgを計50 µLとなるようProtease inhibitor Completeを含む5% SDSで調製した。0.5 mol/L トリス (2-カルボキシエチル) ホスフィン (TCEP, Sigma-Aldrich) を1 µL 加えて37℃で1時間インキュベート後、0.5 mol/L ヨードアセトアミド (Nacalai tesque) を2 µL 加え37℃で30分間インキュベートし、還元アルキル化処理を行った。

S-Trap タンパク質前処理カートリッジ (ProtiFi) を用いて、説明書に準じて界面活性剤および塩を除去した。Trypsin (Promega, タンパク質量の1/10量) とLysyl Endopeptidase (FUJIFILM Wako Pure Chemical, タンパク質量の1/100量) をS-Trapに加えて、37℃で一晩消化した。説明書に準じてペプチドを溶出後、Speed Vac (Thermo Fisher Scientific) を用いて乾燥させた。

ペプチドに100 mmol/L Triethylammonium bicarbonate (TEAB, Sigma-Aldrich) を10 µL 添加し溶解後、説明書に準じてTandem mass tags (TMT, Thermo Fisher Scientific) 標識した。標識した各ペプチドサンプルを1つのチューブにまとめ、Speed Vacを用いて乾燥させた。

乾燥させたサンプルを2 mol/L 尿素 (FUJIFILM Wako Pure Chemical) /1% Trifluoroacetic acid (TFA,

FUJIFILM Wako Pure Chemical) 50 µL で溶解した。C18-SCX Stage Tip (GL Science) を用いて洗浄後、表1組成の溶液を35 µL 加えステップワイズ溶出により分画し、Speed Vacを用いて乾燥させた。SC buffer (0.1% TFA, 2% アセトニトリル) 10 µL を加え溶解後、LC-MS³ 測定に供した。

表1 溶出液の組成

Fraction	Ammonium acetate (mmol/L)	TFA (%)	Acetonitrile (%)
1	0	2	30
2	0	3	30
3	0	4	30
4	0	6	30
5	100	6	30
6	500	8	30
7	500	0	30

LC-MS³ 測定

測定は既報と同様の方法でおこなった²⁾。質量分析装置には、PAL-LSI オートサンプラー (AMR) を接続したUltiMate 3000 RSLCnano UHPLC (Thermo Fisher Scientific) と、ハイブリッド質量分析計Orbitrap Fusion Lumos (Thermo Fisher Scientific) から構成されるLC-MSシステムを使用した。トラップカラムにはPepMap Neo C18 (300 µm × 5 mm, Thermo Fisher Scientific)、分析カラムにはC18 NANO HPLC CAPILLARY COLUMN (75 µm × 120 mm, Nikkyo Technos) を使用し、カラムオーブンは40℃に設定した。分画したサンプルをLC-MS³ 測定に供し、B液を5% (0分) → 35% (90分) までのリニアグラジエントによりペプチドを溶出した (A液0.1% ギ酸; B液100% アセトニトリル) 測定はSynchronous precursor selection (SPS) -MS3モードで行った。

解析

既報と同様の方法で解析した²⁾。タンパク質は*Mus musculus* UniProt FASTA database (UP000000589) を用いて同定した。統計的差異の評価には、各タンパク質の発現量に対して分散分析 (ANOVA) を適用し有意な変動を示すタンパク質をP値 (有意確率) に基づいて判定した。Gene Ontology (GO) 解析を含む機能的エンリッチメント解析は、Metascape (<https://metascape.org>) を用い、デフォルト設定で実施した。

結 果

シャクヤク根エキスによる創傷部位の変化

生検トレパン (先端径4 mm) で皮膚を除去した創

傷部位に、シャクヤク根エキス 20 μg を 1 日 1 回 3 日間 10 μL 滴下し写真を撮影した (図 2)。ヒトを対象とした臨床試験においては、シャクヤク根エキスは 1% で使用されており⁹⁾、さらに各成分の体内への取り込み量および *in silico* による経皮吸収解析から化粧品使用における安全性も確認され¹⁰⁾、0.1% ~ 1% で利用されることが多いことから、本実験では 0.2% 濃度に相当する量を用いた。創傷 Day 1 - 3 ではシャクヤク根エキスを滴下することにより、痂皮形成が亢進していた。一方、創傷 Day 5 の Vehicle 滴下では痂皮が剥離し創面が小さくなっているが、シャクヤクエキス滴下したものでは痂皮が残っていた。創傷 Day 7 ではシャクヤク根エキス滴下の創面は、Vehicle 滴下よりも大きかった。以上より、シャクヤク根エキスにより痂皮形成は促進されるが、創収縮・再上皮化が遅れていることが示唆された。

創傷 Day 1 のシャクヤク根エキスの作用

創傷部位のタンパク質の発現変化を解析するためプロテオーム解析を実施し、2,344 個のタンパク質を同定した。創傷後 1 日目 (創傷 Day1) において、未処置の皮膚と比較し、創傷部位に Vehicle を滴下したものでは、2 倍以上有意にタンパク質発現が増加した分子

が 230 個あり、減少した分子が 186 個あった (図 3)。GO 分析により、2 倍以上有意に増加した分子は、補体の活性化、好中球の浸潤や NET 形成、血液凝固、炎症応答、細胞接着分子、体液性免疫に関与することが示唆された (図 4A)。一方、2 倍以上有意に減少した分子は、モノカルボン酸やアミノ酸などの代謝経路やミトコンドリア関連タンパク質、創傷による組織に起因すると考えられる細胞骨格細胞外マトリックスに関与するものであった (図 4B)。

シャクヤク根エキス滴下により Vehicle 滴下投与よりも、2 倍以上有意にタンパク質発現が増加した分子は 25 個あり、減少した分子が 4 個あった (図 5, 表 2)。GO 分析により、2 倍以上有意に増加した分子は、補体活性化、フィブリン血栓形成、脂質輸送、スカベンジャー受容体を介したリガンドの結合および取り込みに関与することが示唆された (図 6)。一方、減少した 4 分子は、脂肪酸 β 酸化に関与する Hydroxyacyl-CoA dehydrogenase trifunctional multienzyme complex subunit beta (Hadhb)、解糖に関与する Malic enzyme 1 (Me1) や Glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1 (Gpd1)、ミトコンドリア有機酸代謝に関与する Citrate lyase beta-like (Clybl) であった。

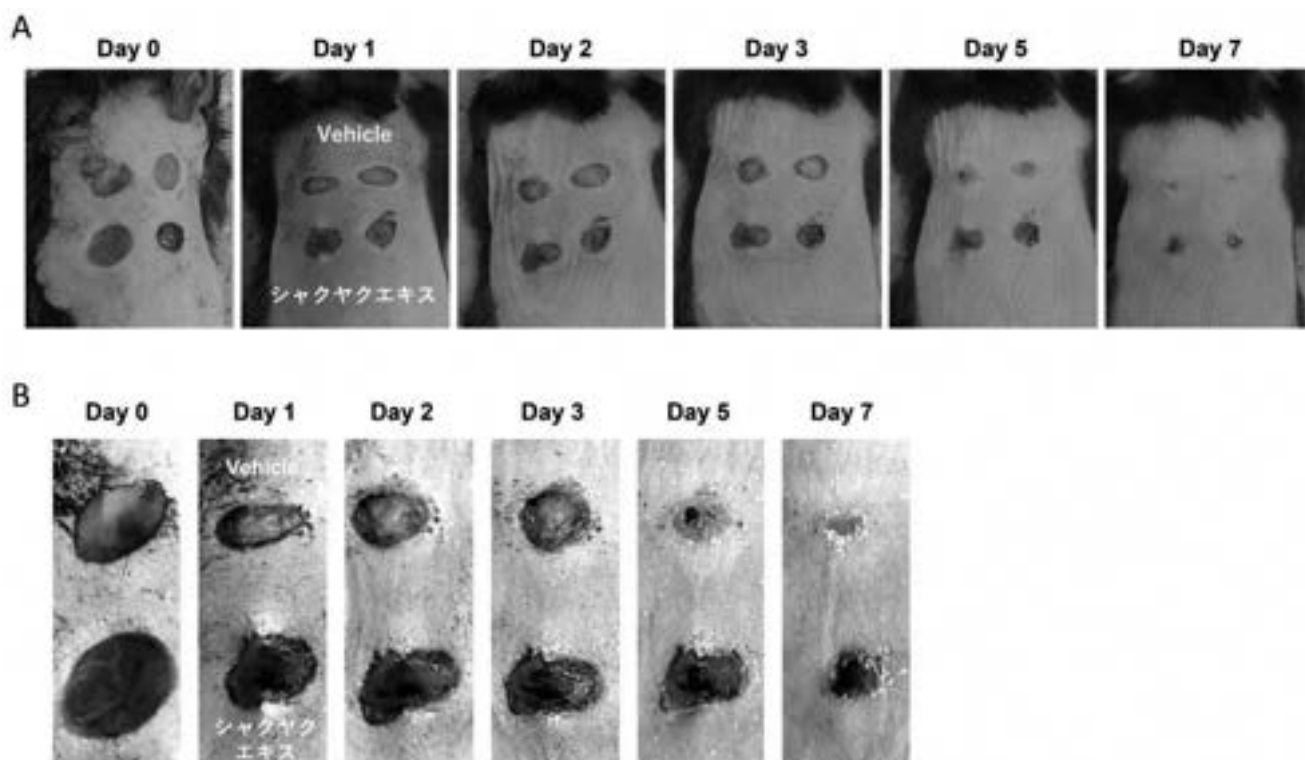


図2 シャクヤク根エキス滴下後の創傷部位の変化

創傷部位の下段2カ所には、シャクヤク根エキス 20 μg を滴下し、創傷部位の上段2カ所には Vehicle を Day 3 まで毎日 1 回滴下した。Day 0 の写真は、滴下前の写真である。A は全体、B は拡大した写真である。

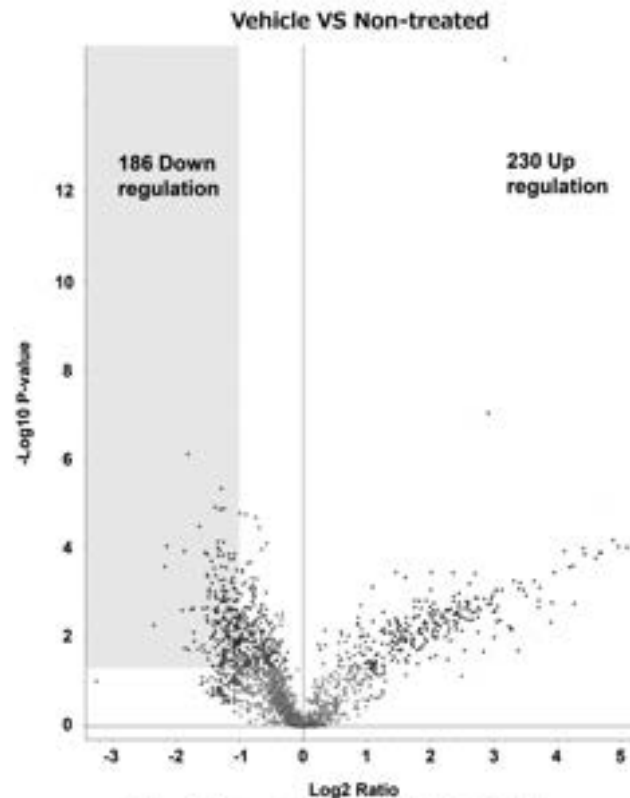


図3 創傷Day 1によるタンパク質の発現変化
未処置とVehicle滴下皮膚を3匹ずつ3カ所用いて解析した。

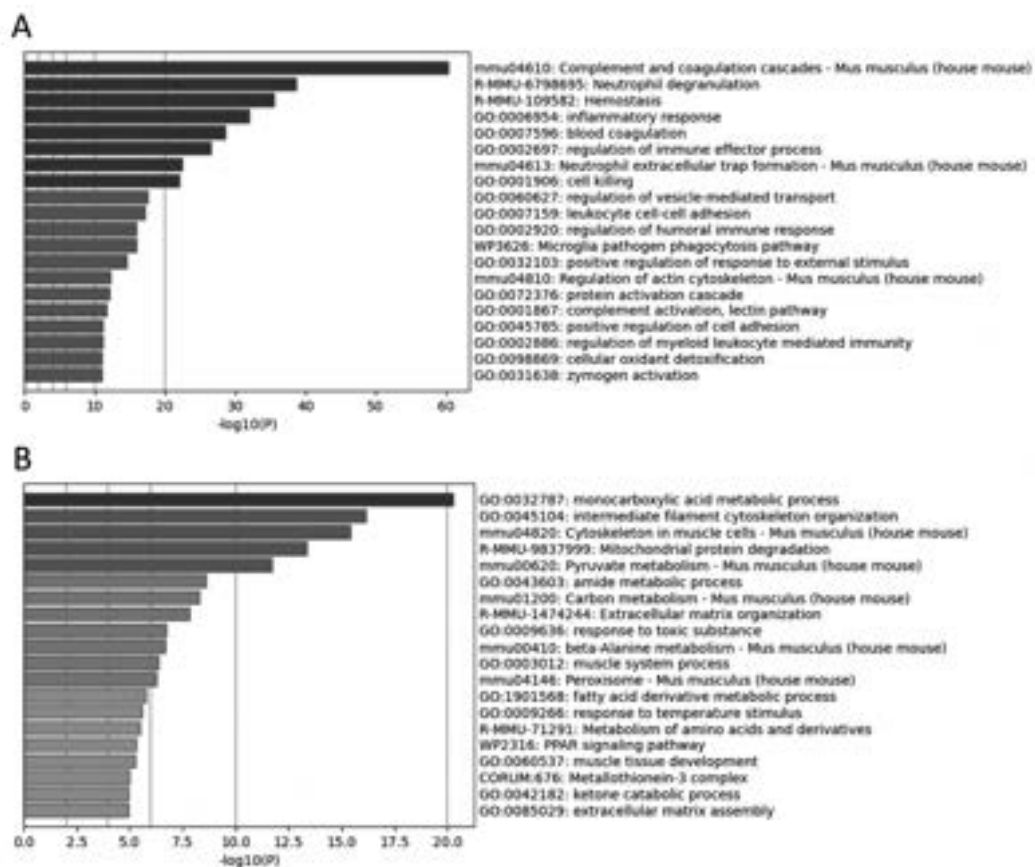


図4 創傷Day 1により発現が変化したタンパク質のGO分析

- A. 未処置と比較し創傷部位で2倍以上有意に増加したタンパク質のGO分析。
B. 未処置と比較し創傷部位で2倍以上有意に減少したタンパク質のGO分析。

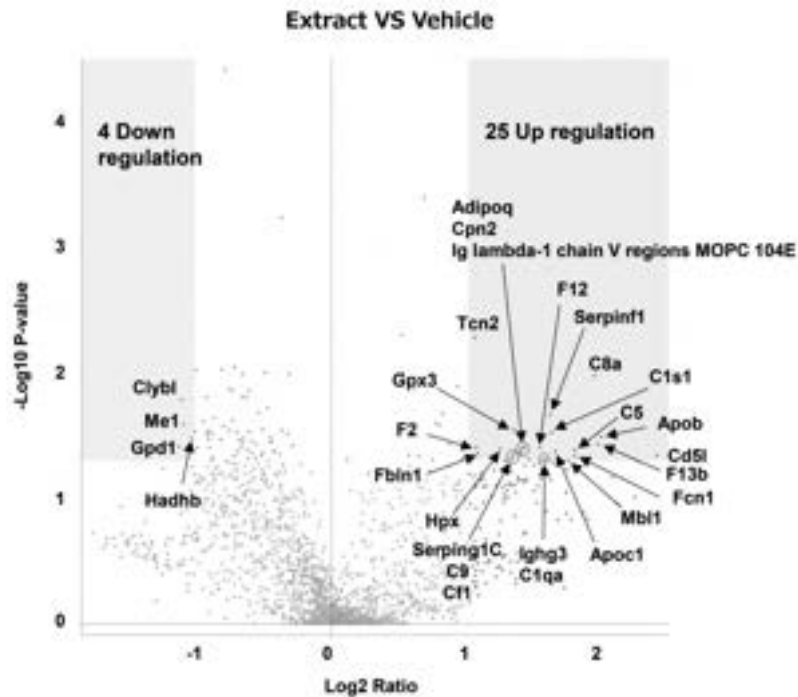


図5 創傷Day 1でのシャクヤク根エキス滴下によるタンパク質の発現変化
Vehicle滴下とシャクヤク根エキス滴下皮膚をそれぞれ3匹3カ所と4匹4カ所用いて解析した。

表2 創傷Day 1において、シャクヤク根エキス滴下によりVehicle滴下よりも有意に2倍以上タンパク質発現が増加した25分子

Description	Gene Symbol	Abundance Ratio	Abundance CV (%)
CD5 antigen-like	Cd5l	5.225	61.3
Apolipoprotein B-100	Apob	3.933	49.5
Coagulation factor XIII B chain	F13b	3.864	51.6
Complement component C8 alpha chain	C8a	3.808	47.6
Complement C5	C5	3.445	46.2
Ficolin-1	Fcn1	3.443	51.9
Mannose-binding protein A	Mbl1	3.331	52.7
Apolipoprotein C-I	Apoc1	3.118	48.2
Complement C1s-A subcomponent	C1s1	3.054	44.0
Pigment epithelium-derived factor	Serpinf1	3.036	44.3
Immunoglobulin heavy constant gamma 3 (Fragment)	Ighg3	2.960	43.7
Complement C1q subcomponent subunit A	C1qa	2.938	50.7
Coagulation factor XII	F12	2.878	43.3
Complement component C8 beta chain	C8b	2.722	46.7
Adiponectin	Adipoq	2.657	41.8
Carboxypeptidase N subunit 2	Cpn2	2.621	41.5
Ig lambda-1 chain V regions MOPC 104E	-	2.615	68.7
Glutathione peroxidase 3	Gpx3	2.531	39.3
Plasma protease C1 inhibitor	Serpin1	2.527	39.2
Complement component C9	C9	2.503	45.1
Complement factor I	Cfi	2.488	38.9
Hemopexin	Hpx	2.355	41.2
Fibulin-1	Fbn1	2.099	37.2
Prothrombin	F2	2.085	31.1
Transcobalamin-2	Tcn2	2.070	23.8



図6 創傷Day 1においてシャクヤク根エキスにより発現が有意に2倍以上増加した25タンパク質のGO分析

創傷 Day 3 のシャクヤク根エキスの作用

創傷を誘導しない未処置の皮膚と比較し、創傷を誘導した Vehicle 滴下投与では、2 倍以上有意にタンパク質発現が増加した分子が 284 個あり、減少した分子が 116 個あった (図 7)。GO 分析により、2 倍以上有意に増加した分子は、好中球の浸潤や Neutrophil Extracellular Trap 形成、補体、炎症応答、細胞接着分子などに関与することが示唆された (図 8A)。好中球顆粒に豊富に存在する Neutrophil elastase (Elane) や Myeloperoxidase (Mpo) など増加することから、好中球が創傷部位に浸潤していることが推察され、好中球炎症が誘導されていると考えられた。一方、Fibronectin1 (Fn1), Vitronectin (Vtn), Tenascin C (Tnc), Thrombospondin 1 (Thbs1), Versican (Vcan) などの細胞外マトリックス関連遺伝子群の発現増加が確認されたことから、細胞外マトリックスの再構築および組織修復の活性化を示唆する。一方、2 倍以上有意に減少した分子は、創傷による組織に起因すると考えられる細胞骨格細胞外マトリックスに関するものであった (図 8B)。

シャクヤク根エキス滴下により Vehicle 滴下投与よりも、2 倍以上有意にタンパク質発現が増加した分子はなかった (図 9)。一方、有意差はないが 1.5 倍以上

増加する分子は 70 個あり、Mpo や補体分子、凝固・線溶系など免疫血栓形成を継続して促進している傾向があった (図 10)。

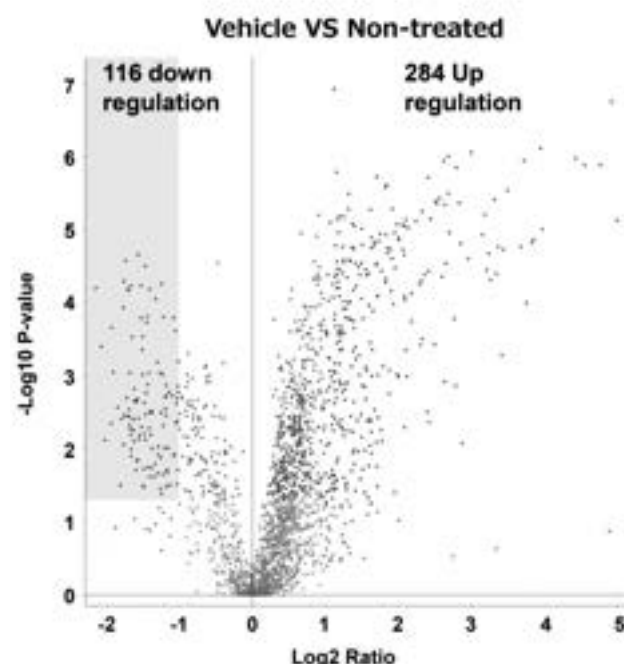


図7 創傷Day 3によるタンパク質の発現変化
未処置とVehicle滴下皮膚を3匹ずつ3ヵ所を用いて解析した。

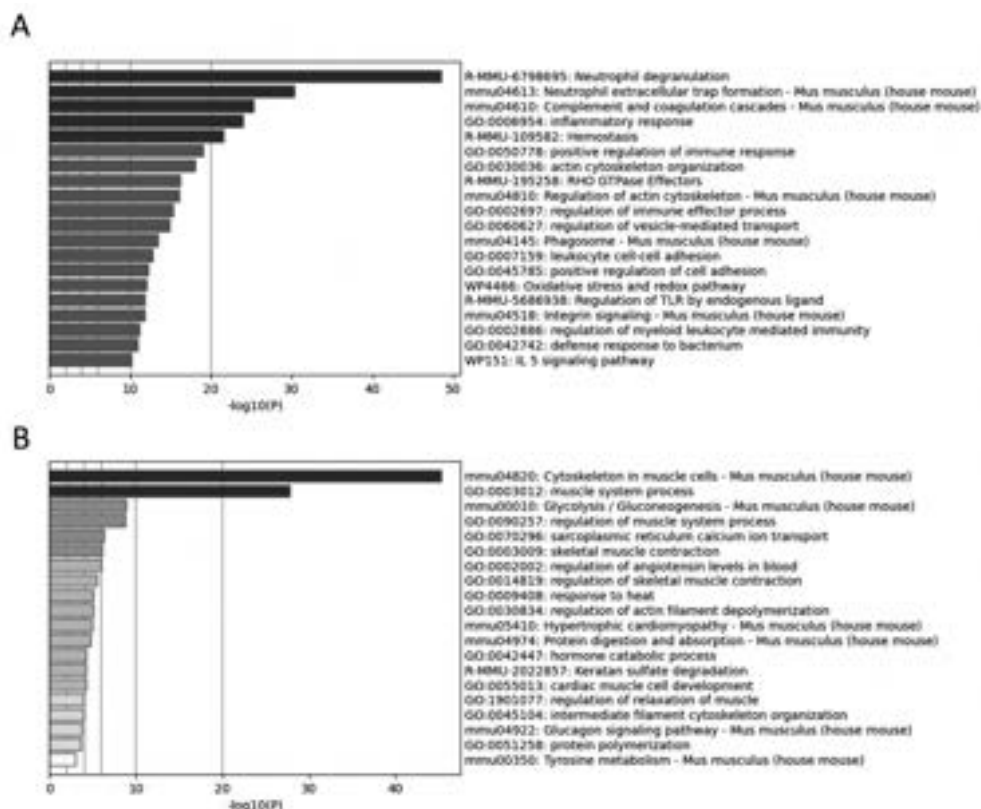


図8 創傷Day 3によるタンパク質の発現変化

A. 未処置と比較し創傷部位で2倍以上有意に増加したタンパク質のGO分析。
B. 未処置と比較し創傷部位で2倍以上有意に減少したタンパク質のGO分析。

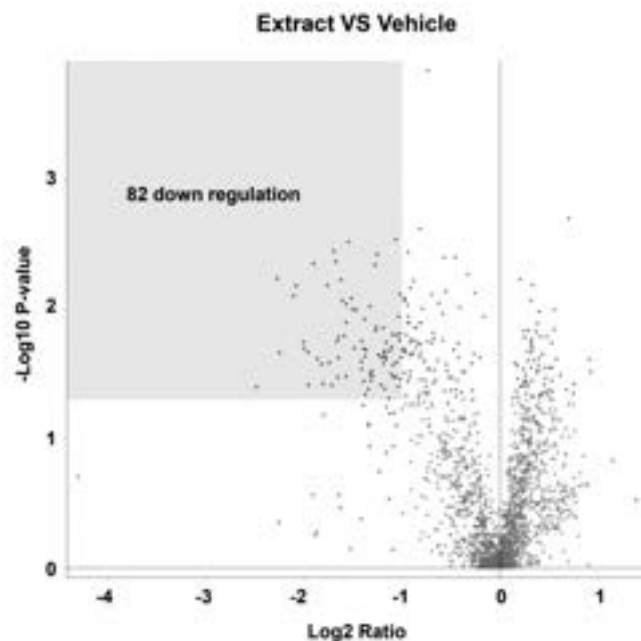


図9 創傷Day 3でのシャクヤク根エキス滴下によるタンパク質の発現変化
Vehicle滴下とシャクヤク根エキス滴下皮膚をそれぞれ3匹3カ所と4匹4カ所
用いて解析した。

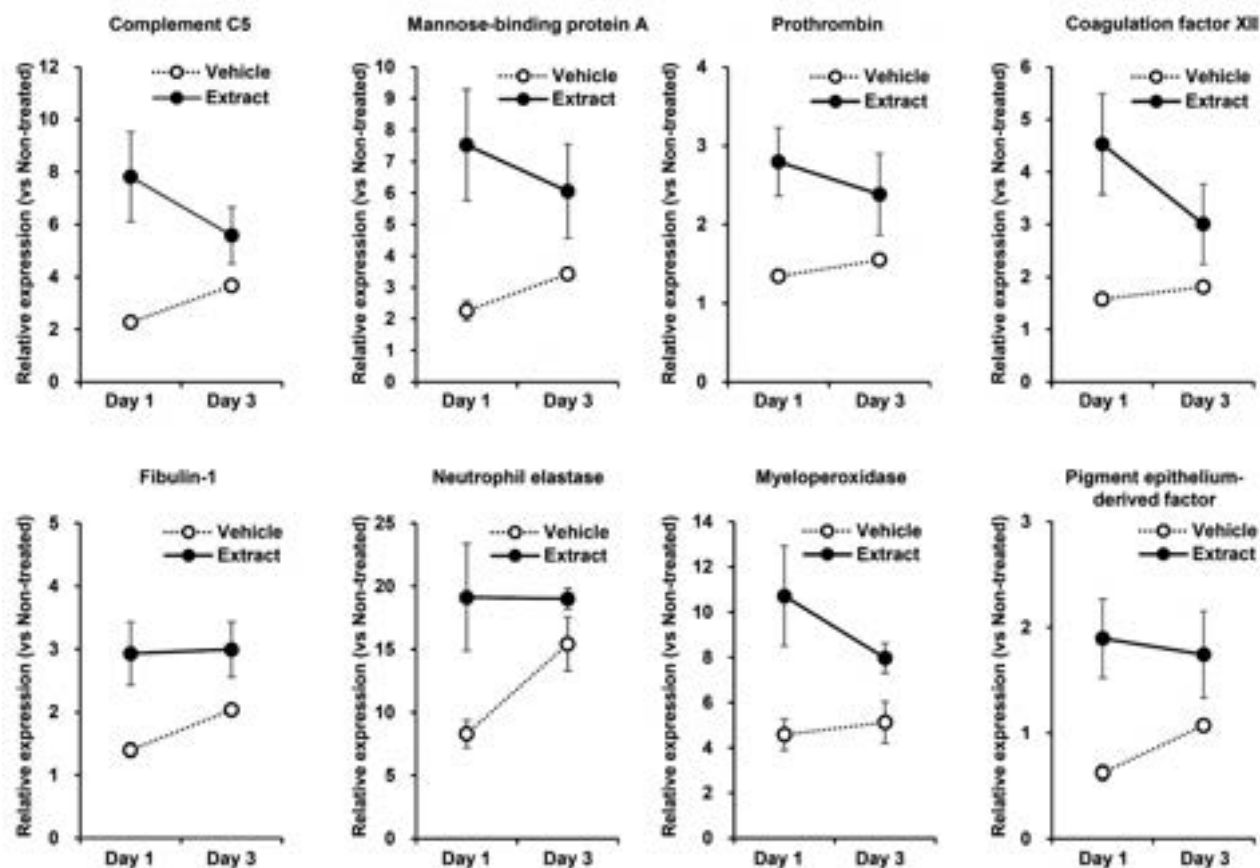


図10 創傷Day 1およびDay 3のシャクヤク根エキスによるタンパク質の発現変化
未処置皮膚サンプルに対する創傷Day 1および創傷Day 3のVehicleまたはシャクヤク根エキス滴下皮膚サンプルにおける代表的な
タンパク質の発現変化をグラフ化した。Error barはSEで表示した。

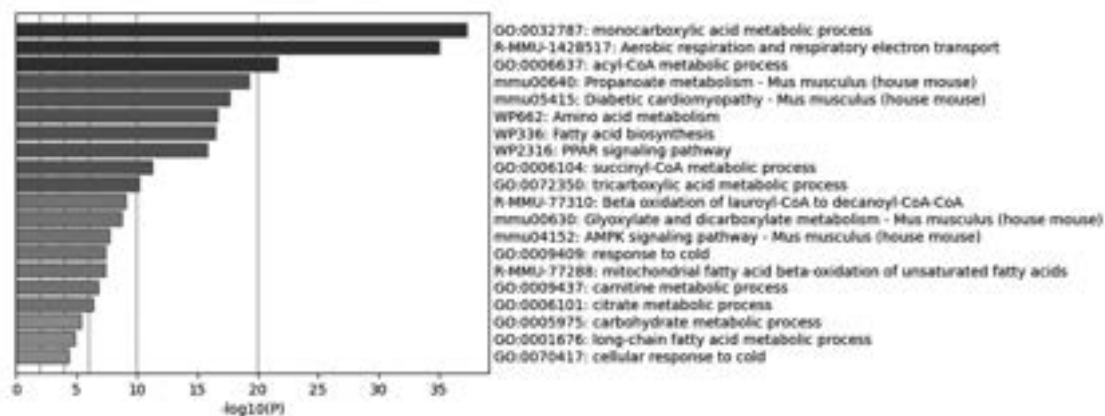


図11 創傷Day 3においてシャクヤク根エキスにより有意にタンパク質発現が減少した分子のGO分析

Vehicle 滴下投与よりもシャクヤク根エキス滴下により2倍以上有意に減少した分子は82個あった(図9)。GO分析により、電子伝達系、TCA回路、脂質代謝・脂肪酸合成、解糖系など代謝に関連することがわかった(図11)。上記はミトコンドリアに関連するものが多く、シャクヤク根エキス滴下によりミトコンドリア代謝が減少している可能性が示唆された。

考 察

シャクヤク根エキスを創傷部に滴下した結果、創傷Day 1からDay 3にかけてはVehicleと比較して痂皮形成が亢進しているように観察された一方で、創傷Day 5およびDay 7では創面サイズが大きく、治癒の遅延が観察された。このことから、本エキ스는創傷治癒過程において時間依存的な作用、すなわち二相性の影響を及ぼす可能性が考えられる。

これまで富山県薬事研究会生物部会の研究において、シャクヤク根エキスをHeLa細胞に添加することにより、コレステロールやスフィンゴ脂質を含む脂質代謝関連タンパク質、ならびに抗酸化作用を担う酵素スーパーオキシドジスムターゼ2(SOD2)の発現が増加することを報告した²⁾。また、ミトコンドリア呼吸鎖複合体II、クロマチンリモデリング複合体の一つであるCHRAC、およびリボソーム関連タンパク質の発現が減少することも報告している²⁾。しかし、本研究でシャクヤク根エキスによりタンパク質発現が変動する分子とは一致しなかった。その要因として、本研究では創傷部位において浸潤・増殖する多様な細胞、ならびにそれら細胞間のクロストークが反映されている可能性が考えられる。すなわち、本研究は創傷および創傷治癒過程の全体像を解析していると考えられる。

プロテオーム解析の結果、創傷Day 1にシャクヤ

ク根エキスにより、補体系や凝固系、脂質関連分子、抗酸化分子、および細胞外マトリックス関連分子の発現増加が認められた(図5、表2)。補体系においては、Complement C1q subcomponent subunit A (C1qa)やComplement C1s-A subcomponent (C1s1)に代表される古典経路、Mannose-binding lectin 1 (Mbl1)やFicolin 1 (Fcn1)によるレクチン経路、さらにC5からC9に至る終末経路の構成因子が広範に増加しており、補体カスケードの活性化が示唆された。一方で、Complement Factor I (Cfi)やPlasma protease C1 inhibitor (Serpin1)といった補体制御因子も同時に増加していたことから、補体活性は過剰に進行するのではなく、一定の制御下にある状態が反映されている可能性がある。

さらに、Prothrombin (F2)、Coagulation factor XII (F12)、Coagulation factor XIII B chain (F13b)などの凝固関連因子の増加は、フィブリン形成および創傷部位における止血・暫定的マトリックス形成の促進を示唆する。これら補体および凝固系の活性化は相互に関連し、いわゆる免疫血栓形成(immunothrombosis)を介して病原体の封じ込めや炎症局所の隔離に寄与する可能性がある¹⁰⁾。このような初期応答は、感染防御および創傷被覆の観点から、痂皮形成の促進という表現型と整合する。

ApoB-100 (Apob)およびApolipoprotein C1 (Apoc)の増加は、オメガ3およびオメガ6多価不飽和脂肪酸を含むリポタンパク質の輸送および代謝・取り込みの調節に関与する可能性がある。これらの多価不飽和脂肪酸は免疫応答の調節に関与するとともに、皮膚創傷治癒、修復、および組織リモデリングに重要な役割を果たすことが知られている¹²⁾。アディポネクチン(Adipoq)は、皮膚創傷治癒の主要な調節因子として同定されており、ケラチノサイトの増殖および遊

走, ならびにコラーゲンの組織化を促進することが示されている^{13, 14)}. また, Adipoq は, NF- κ B シグナル経路を介して炎症や自然免疫の活性化抑制することも知られており¹⁵⁾, CD5 antigen-like (Cd5l) はマクロファージ機能の調節に関与し, 炎症の過剰な進展を抑制する方向に働くことが報告されている¹⁶⁾. また, Immunoglobulin heavy constant gamma 3 (Ighg3) の増加は体液性免疫の活性化を反映し, 補体活性化との協調によって免疫複合体の処理が促進されている可能性がある¹⁷⁾. さらに, Glutathione peroxidase 3 (Gpx3)¹⁸⁾ や Hemopexin (Hpx)¹⁹⁾ の増加は, それぞれ活性酸素種や遊離ヘムによる酸化ストレスから組織を保護する応答を示しており, 炎症に伴う組織障害の軽減に寄与することが考えられる. 加えて, Fibulin-1 (Fbln1)²⁰⁾ や Plasma protease C1 inhibitor (Serpinf1)²¹⁾ といった細胞外マトリックス関連分子の上昇は, 組織構造の安定化や血管新生の制御を通じて, 適切な修復環境の形成に寄与する可能性がある.

創傷 Day 1 では, シャクヤク根エキス添加により補体, フィブリン血栓形成関連因子, 脂質輸送分子のタンパク質発現が有意に増加した (図 5, 表 2). 一方, 創傷 Day 3 においても Vehicle 滴下と比較して増加傾向は認められたものの, 有意差は認められなかった (図 9, 10). 以上より, 免疫血栓形成に関連するシャクヤク根エキスの効果は, 創傷 Day 3 よりも Day 1 において, より明瞭に認められる可能性が示唆された.

一方, 創傷 Day 3 においては, 呼吸鎖複合体 I, III, IV の構成分子をはじめとするミトコンドリア機能関連タンパク質, ならびに TCA 回路および脂肪酸 β 酸化に関与する酵素群の有意な減少が認められた. これらの結果は, ミトコンドリア依存的エネルギー代謝の低下, すなわち創傷局所における代謝リプログラミングの可能性を示唆する. 炎症環境下では, 好中球などの炎症細胞が主として解糖系に依存した代謝様式をとることが知られており²²⁾, ミトコンドリア代謝の寄与は相対的に低下する. 実際に, 好中球顆粒に豊富に含まれる Mpo は統計学的有意差には至らないものの増加傾向を示しており, 炎症細胞の関与が示唆される. したがって, 観察されたミトコンドリア関連タンパク質の減少は, 炎症細胞の浸潤や局所の低酸素環境など, 複合的な要因による細胞組成および代謝状態の変化を反映している可能性がある.

創傷 Day 5 および Day 7 において創面の拡大が認められたことから, 初期に誘導された免疫血栓形成や炎症応答が過剰に持続した場合には, 炎症の遷延や組織修復の阻害を引き起こす可能性がある. 免疫血栓形

成は創傷治癒初期において重要な防御機構である一方で, その過剰な活性化は線維化や瘢痕形成の増悪に寄与することが知られている²³⁾. 本研究の結果は, シャクヤク根エキスは, 創傷治癒の初期段階には促進的に作用する一方で, 後期には抑制的に作用する可能性をタンパク質レベルで示すものである.

以上より, シャクヤク根エキスは補体・凝固系の活性化を介して初期の創傷応答を促進する一方で, その作用の程度や持続時間によっては炎症の遷延を引き起こし, 結果として創傷治癒に対して二相性の影響を及ぼす可能性が示唆された. 一方, 本研究ではシャクヤク根エキスの投与濃度や投与頻度の最適化を十分に検討できていない. また, 創傷の部位の違いによって, 運動負荷に伴う機械的ストレスの差異の影響を排除できなかった. 今後, より慎重な実験条件の設定や, 細胞組成の変化や炎症動態を詳細に解析することで, 本エキスの創傷治癒における薬効の解析が必要と考える.

シャクヤク根エキスおよびその主成分であるペオニフロリンは, メラニン生成抑制作用^{4,5)} やミトコンドリア保護作用²⁴⁾ などの皮膚に対する有効性や, 安全性に関する知見も蓄積されていることから^{9,10)}, 本研究で提示したプロテオーム解析の手法を活用した作用機構の解明は, 創薬研究基盤の有用なツールであり, 新規医薬品の開発促進に資するものと期待される.

謝 辞

プロテオーム解析に関しては, 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所 創薬デザイン研究センター 創薬標的プロテオミクスプロジェクト プロジェクトリーダー 足立 淳先生より多大なるご指導を賜りました. 謹んで深謝申し上げます.

文 献

- 1) Gates, A. J., Gysi, D. M., Kellis, M. and Barabási, A. L.: A wealth of discovery built on the Human Genome Project - by the numbers, *Nature*, 590 (7845), 212-215 (2021)
- 2) 小島理恵子, 渡邊康春, 南谷武春, 柳橋努, 相川幸彦, 富山県薬事研究会生物部会: 培養細胞を対象とした相対定量プロテオーム解析, 富山県薬事研究所年報, 52, 36-45 (2025)
- 3) Parker, S., May, B., Zhang, C., Zhang, A. L., Lu, C. and Xue, C. C.: A Pharmacological Review of Bioactive Constituents of *Paeonia lactiflora* Pallas

- and *Paeonia veitchii* Lynch, *Phytother. Res.*, 30, 1445~1473 (2016)
- 4) Lee, S., Lim, J. M., Jin, M. H. Park, H. K., Lee, E. J., Kang, S., Kim, Y. S. and Cho, W. G.: Partially purified paeoniflorin exerts protective effects on UV-induced DNA damage and reduces facial wrinkles in human skin, *J., Cosmet., Sci.*, 57, 57~64 (2006)
 - 5) Qiu, J., Chen, M., Liu, J., Huang, X., Chen, J., Zhou, L., Ma, J., Sextius, P., Pena, A. M., Cai, Z. and Jeulin, S.: The skin-depigmenting potential of *Paeonia lactiflora* root extract and paeoniflorin: *in vitro* evaluation using reconstructed pigmented human epidermis, *Int., J., Cosmet., Sci.*, 38, 444~451 (2016)
 - 6) 林祥太, 岩橋弘恭, 屋敷圭子, 木曾昭典: 表皮創傷治癒に対するシャクヤク根エキスの効果, 日本化粧品技術者誌, 55, 331~337 (2021)
 - 7) Peña, O. A. and Martín, P.: Cellular and molecular mechanisms of skin wound healing, *Nat., Rev., Mol., Cell, Biol.*, 25, 599~616 (2024)
 - 8) Moreira, C. F., Cassini-Vieira, P., Felipetto, M. and Barcelos, L. S.: Skin Wound Healing Model - Excisional Wounding and Assessment of Lesion Area, *Bio-protocol*, 5, e1661 (2015)
 - 9) Kanai, K., Biswas K. B., Hirasawa, A., Futamura, M., Tanaka, K. and Sakamoto, K.: Peony Root Extract Controls AGE-RAGE Interaction, Suppresses AGE Formation, and Reduces Skin Dullness, *Cosmetics*, 12, 163 (2025)
 - 10) Jeon, S., Lee, E. Y., Nam, S. J. and Lim, K. M.: Safety assessment of *Paeonia lactiflora* root extract for a cosmetic ingredient employing the threshold of toxicological concern (TTC) approach, *Regul., Toxicol., Pharmacol.*, 149, 105620 (2024)
 - 11) Almskog, L. M. and Ågren, A.: Thromboinflammation vs. immunothrombosis: strategies for overcoming anticoagulant resistance in COVID-19 and other hyperinflammatory diseases. Is ROTEM helpful or not?, *Front., Immunol.*, 16, 1599639 (2025)
 - 12) Hokynková, A., Nováková, M., Babula, P., Sedláčková, M. and Paulová, H.: Fatty acid supplementation affects skin wound healing in a rat model, *Nutrients*, 14, 2245 (2022)
 - 13) Salathia, N. S., Shi, J., Zhang, J. and Glynn, R. J.: An *in vivo* screen of secreted proteins identifies adiponectin as a regulator of murine cutaneous wound healing, *J., Invest., Dermatol.*, 133, 812~821 (2013)
 - 14) Shibata, S., Tada, Y., Asano, Y., Hau, C. S., Kato, T., Saeki, H., Yamauchi, T., Kubota, N., Kadowaki, T. and Sato, S.: Adiponectin regulates cutaneous wound healing by promoting keratinocyte proliferation and migration via the ERK signaling pathway, *J., Immunol.*, 189, 3231~3241 (2012)
 - 15) Oh, J., Lee, Y., Oh, S. W., Li, T., Shin, J., Park, S. H. and Lee, J.: The Role of Adiponectin in the Skin, *Biomol., Ther.*, 30, 221~231 (2022)
 - 16) Sanjurjo, L., Aran, G., Téllez, É., Amézaga, N., Armengol, C., López, D., Prats, C. and Sarrias, M. R.: CD5L Promotes M2 Macrophage Polarization through Autophagy-Mediated Upregulation of ID3, *Front., Immunol.*, 9, 480 (2018)
 - 17) Abendstein, L., Dijkstra, D. J., Tjokrodirdjo, R. T. N., van Veelen, P. A., Trouw, L. A., Hensbergen, P. J. and Sharp, T. H.: Complement is activated by elevated IgG3 hexameric platforms and deposits C4b onto distinct antibody domains, *Nat., Commun.*, 14, 4027 (2023)
 - 18) Kim, U., Kim, C. Y., Lee, J. M., Ryu, B., Kim, J., Bang, J., Ahn, N. and Park, J. H.: Loss of glutathione peroxidase 3 induces ROS and contributes to prostatic hyperplasia in Nkx3.1 knockout mice, *Andrology*, 8, 1486~1493 (2020)
 - 19) Montecinos, L., Eskew, J. D. and Smith, A.: What Is Next in This "Age" of Heme-Driven Pathology and Protection by Hemopexin? An Update and Links with Iron, *Pharmaceuticals*, 12, 144 (2019)
 - 20) Michalczyk, E. R., Chen, L., Fine, D., Zhao, Y., Mascarinas, E., Grippo, P. J. and DiPietro, L. A.: Pigment Epithelium-Derived Factor (PEDF) as a Regulator of Wound Angiogenesis, *Sci., Rep.*, 8, 11142 (2018)
 - 21) Wark, P. A., Walker, M. M., Horvat, J. C., Oliver, B. G., Argraves, W. S., Knight, D. A., Burgess, J. K. and Hansbro, P. M.: Fibulin-1 regulates the pathogenesis of tissue remodeling in respiratory diseases, *JCI Insight*, 1, e86380 (2016)
 - 22) Jeon, J. H., Hong, C. W., Kim, E. Y. and Lee, J. M.: Current Understanding on the Metabolism of Neutrophils, *Immune., Netw.*, 20, e46 (2020)

- 23) Kidzeru, E. B., Lebeko, M., Sharma, J. R., Nkengazong, L., Adeola, H. A., Ndlovu, H. P., Khumalo, N. and Bayat, A.: Immune cells and associated molecular markers in dermal fibrosis with focus on raised cutaneous scars, *Exp., Dermatol.*, 32, 570~587 (2023)
- 24) Shigeyama, K. and Sakaguchi, I.: *Paeonia lactiflora* Pallas Root Extract Protects Against Blue Light-Induced Mitochondrial Damage, *Appl., Cosmetic, Sci., & Tech.*, 1, 224~232 (2025)

液体クロマトグラフ飛行時間型質量分析計(LC-TOF/MS)を用いた ニトロソアミン原薬関連不純物 (NDSRIs) の分析

米田 哲也, 薬事研究会分析部会

Analysis of Nitrosamine Drug Substance-Related Impurities (NDSRIs) Using Liquid Chromatography Time-of-Flight Mass Spectrometry (LC-TOF/MS)

Tetsuya YONEDA, The Chemical Analysis Study Group in Toyama Pharmaceutical Research Association

要 旨

本研究では、標準物質の入手が制限されているニトロソアミン原薬関連不純物 (NDSRIs) の生成確認を行う手法の検討を行った。そこで、NDSRIs の生成が予想される製剤の原薬化合物について、亜硝酸ナトリウムを反応させ、その反応溶液を液体クロマトグラフ飛行時間型質量分析計 (LC-TOF/MS) で分析することにより、生成した NDSRIs を検出することができないか評価を行った。検討を行った 7 種類すべての原薬化合物から、NDSRIs と考えられるピークが検出された。さらに、反応試薬として市販されているニトロソ化試薬を用いて同様の検討を行った。その結果、亜硝酸ナトリウムを用いた反応溶液と同じリテンションタイム (RT) に NDSRIs と考えられるピークが検出され、MS/MS スペクトルが一致した。アトモキセチンの反応溶液から検出され、NDSRIs と考えたピークについては、化学合成した *N*-ニトロソアトモキセチンを標準物質として用いて検討し、このピークが *N*-ニトロソアトモキセチンであると同定した。本手法は、2 級アミンを持つ原薬化合物から、NDSRIs が生成する可能性があるか確認するためのスクリーニング方法として、活用できるのではないかと考える。

Summary

We developed a method for confirming the formation of nitrosamine drug substance-related impurities (NDSRIs), for which reference standards are often unavailable. The method involves reacting active pharmaceutical ingredients that are expected to form NDSRIs with sodium nitrite, followed by analyzing the reaction mixtures through liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry (LC-TOF/MS). Peaks considered to be NDSRIs were detected in all seven active pharmaceutical ingredients examined. To further validate the method, the same experiments were performed using commercially available nitrosating reagents. Peaks presumed to be NDSRIs were detected at the same retention time as those obtained with sodium nitrite, and their MS/MS spectra were consistent, supporting the proposed assignments. In addition, the putative NDSRI detected in the atomoxetine reaction solution was confirmed by comparison with chemically synthesized *N*-nitrosoatomoxetine as a standard. These findings demonstrate that the proposed method is a useful screening approach for determining whether NDSRIs can be generated from active pharmaceutical ingredients containing secondary amines.

キーワード: ニトロソアミン原薬関連不純物, 液体クロマトグラフィー飛行時間型質量分析, *N*-ニトロソアトモキセチン

Key words: NDSRIs, LC-TOF/MS, *N*-nitroso atomoxetine

緒 言

多くのニトロソアミン類は、発がん性があることが知られている。2018 年 7 月にサルタン系医薬品であるバルサルタン原薬において、ニトロソアミン類に分類される *N*-ニトロソジメチルアミン (NDMA) や *N*-ニトロソジエチルアミン (NDEA) が検出されたことをきっかけに、製薬企業では、許容摂取量を上回る量

のニトロソアミン類が製剤中に含まれていないか自主点検が行われた。その結果、基準値以上のニトロソアミン類が検出された製剤は、自主回収が行われた。また、今後もニトロソアミン類の混入リスクを評価し、必要に応じて適切なリスク低減措置について検討を行うように、厚生労働省から通知が出されている¹⁾。本

事例を受けて、当センターにおいても液体クロマトグラフ質量分析計を用いた分析法^{2, 3, 4)}を構築し、県内製薬企業へニトロソアミン類の分析に関する情報提供や技術支援を行っている。近年新たな事例として、基準値以上のニトロソアミン原薬関連不純物(NDSRIs)が製剤中から検出され、自主回収が行われた⁵⁾。このNDSRIsについても発がん性を示すことが疑われており、アミン構造をもつすべての原薬化合物から生成する可能性が考えられる。また、対象となる化合物が無数に存在するため、分析に必要な標準物質を入手することができないケースがある。その場合、製薬企業では、NDSRIsについて検出や定量する方法を構築することが容易ではない。従って、製薬企業にとってNDSRIsは、標準物質が存在するNDMAやNDEAのようなニトロソアミン類以上に大きな問題となっている。

そこで本研究では、NDSRIsの生成が予想される製剤⁶⁾の原薬化合物(7種類)について、亜硝酸ナトリウム共存下およびニトロソ化試薬の処理によりNDSRIsが得られるか、液体クロマトグラフ飛行時間型質量分析計(LC-TOF/MS)を用いた精密質量の分析により検討した。

方 法

1. 試薬及び機器

7種類の対象原薬化合物(ノルトリプチン塩酸塩、アモキサピン、アトモキセチン塩酸塩、パロキセチン塩酸塩、ミラベクロン、シルデナフィルクエン酸塩、及びシナカルセト塩酸塩)は、東京化成工業製を使用した。亜硝酸ナトリウム(特級)、酢酸、酢酸ナトリウム、ギ酸は、富士フイルム和光純薬製を使用した。塩酸、ジクロロメタン(特級)、LC/MS用アセトニトリルは、関東化学製を使用した。水は、MerckMillipore社製のMilli-Qシステムで作製した超純水を使用した。市販品のニトロソ化試薬は、3,3-Dimethyl-2-nitroso-2,3-dihydrobenzo[d]isothiazole 1,1-Dioxide(東京化成工業製)を使用した。標準物質として使用した*N*-ニトロソアトモキセチンは、立山化成株式会社が化学合成したものであり、¹H NMR及びHRMSにより構造決定が行われている。

化合物データ：

¹H NMR(d₆-DMSO, 400 MHz) δ 2.19~2.38(m, 5H), δ 3.01(s, 3H), δ 4.27(quin, 1H), δ 4.36(quin, 1H), δ 5.37(dd, 1H), δ 6.66(d, 1H), δ 6.74(t, 1H), δ 6.95(t, 1H), δ 7.11(d, 1H), δ 7.26(t, 1H), δ 7.34(t, 2H), δ 7.41(d, 1H)

HRMS(ESI) m/z calcd for C₁₇H₂₀N₂O₂ 285.1598(M+H)⁺, found 285.1447

液体クロマトグラフィー分析装置はNexera Bio(島津製作所)、飛行時間型質量分析計はmaXis II.(Bruker社)をそれぞれ使用した。MS/MSスペクトルの解析用ソフトは、MetaboScape2024b(Bruker社)を使用した。pHメーターは、HM-30R(東亜ディーケーケー社製)を使用した。

2. 実験方法

2-1. 亜硝酸ナトリウムを用いたニトロソ化反応

各試料を約10 mg量り、10%塩酸水溶液または25%酢酸水溶液を10 mL加え、水またアセトニトリルで希釈し、15 mLとした。これらの溶液に亜硝酸ナトリウム(2.5 eq)を加え、室温で24時間攪拌した。これらの反応溶液をフィルターろ過し、10 μ L注入しLC-TOF/MSで分析した。

2-2. ミラベクロンの反応条件の検討

ミラベクロンを約10 mg量り、pH 5の酢酸/酢酸ナトリウム緩衝液、pH 6の酢酸/酢酸ナトリウム緩衝液、水をそれぞれ加えて15 mLとした。pH 5及びpH 6の酢酸/酢酸ナトリウム緩衝液については、0.5 M酢酸溶液と0.5 M酢酸ナトリウム溶液を作製し、pHメーターを用いてpHが5及び6になるように混合した。これらの溶液に亜硝酸ナトリウム(2.5 eq)を加え溶解させて、室温で24時間攪拌した。これらの反応溶液をフィルターろ過し、10 μ L注入しLC-TOF/MSで分析した。

2-3. ニトロソ化試薬を用いたニトロソ化反応

各試料(0.1 mmol)、およびニトロソ化試薬を約27 mg(0.24 mmol, 1.2 eq)を量り、ジクロロメタン1 mLを加えて室温で24時間攪拌した⁷⁾。これらの反応溶液をフィルターろ過し、10 μ L注入しLC-TOF/MSで分析した。

2-4. LC-TOF/MSの分析条件

<液体クロマトグラフィー>

カラム：Aquity UPLC BEH C18 (2.1 $\times$ 100 mm, 1.7 μ m)、カラム温度：40 $^{\circ}$ C、流量：0.3 mL/min、注入量：10 μ L

グラジエント条件：

A：0.1% ギ酸水溶液、B：0.1% ギ酸アセトニトリル溶液

0~0.5 min (A：99%, B：1%), 0.5~6 min (A：99%, B：1% $\rightarrow$ A：1%, B：99%), 6~7 min (A：1

%, B : 99 %)

＜飛行時間型質量分析計＞

イオン化法：ESI， スキャンモード：ポジティブ，
キャリブラント：ギ酸ナトリウム， キャピラリー：
4500 V， ドライガス：8.0 L/min， キャピラリー温
度：200 ℃， コリジョンエネルギー：5.0 eV， MS ス
キャン：m/z 50-1000

結果及び考察

亜硝酸ナトリウムを用いたニトロソ化反応

NDSRIs が生成する要因のひとつとして， 原薬化合物の構造にあるアミンと窒素酸化物 (NO_x) の反応が考えられている⁸⁾。 NO_x は亜硝酸ナトリウムから生成することができる⁹⁾。 亜硝酸ナトリウム等の亜硝酸塩は， 医薬品に含まれる添加剤の不純物として含まれていることがあり， 製剤中で起こりうる反応条件に合わせて， 医薬品の原薬化合物に亜硝酸ナトリウムを反応させた。 その反応溶液を LC-TOF/MS で分析することにより， NDSRIs を検出することができないか検討を行った。 なお， 今回の検討は NDSRIs の生成を確認することが目的であるため， ニトロソ化反応が進行しやすい酸性溶液下で行った。 検討を行った化合物及び検討した NDSRIs を表 1 及び図 1 示した。

まず始めに， 検討を行う原薬化合物すべてを同一の条件で分析ができる液体クロマトグラフィーの分析条件の構築を行った。 実験方法に示す分析条件で分析を行ったところ， 約 3～5 分の間に原薬化合物のプロトン付加体のピークが検出された (図 2)。 この分析条件で， 亜硝酸ナトリウムを加えてニトロソ化反応をかけた反応溶液を測定し， その MS スペクトルについて解析を行った。 各反応溶液から NDSRIs のプロトン付加体の精密質量を抽出した MS スペクトルを示す (図 3)。 ノルトリプチンの反応溶液からは 6.2 分， アモキサピンの反応溶液からは 5.7 分， アトモキセチンの反応溶液からは 5.9 分， パロキセチンの反応溶液からは 4.8 分， 5.5 分及び 5.8 分， ミラベクロンの反応溶液からは 3.6 分， 3.9 分及び 4.1 分， シルデナフィルの反応溶液からは 3.7 分， 4.8 分及び 5.2 分， シナカルセトの反応溶液からは 6.8 分にピークがそれぞれ検出された。 パロキセチン， ミラベクロン， シルデナフィルの反応溶液では， 異なるリテンションタイム (RT) にピークが検出された。 複数のピークが検出された反応溶液については， ピークが検出された RT に NDSRIs のプロトン付加体の精密質量以外に多くの MS スペクトルが検出されていた。 そのため， 今回の分析条件では分離ができなかったニトロソ化反応で生

成した複数の不純物が同時にイオン化したことで， 偶然に NDSRIs のプロトン付加体の精密質量と同じ質量が検出された可能性も考えられる。 そのため， 今回検出されたピークすべてについて， 解析用ソフトウェア (MetaboScape2024b) を用いて， フラグメントイオンから推定される構造が NDSRIs の構造と一致するか， また， 原薬化合物の MS/MS スペクトルも参考に， NDSRIs のピークが検出されるか確認を行った。

ノルトリプチンの反応溶液については， 三環構造のベンゼン環 1 つが含まれたフラグメントイオン (m/z 105.0699, 115.0541, 117.0698, 129.0697, 141.0698, 155.0853)， 三環構造のベンゼン環と七員環を示すフラグメントイオン (m/z 153.0696)， 三環構造のベンゼン環 2 つが含まれたフラグメントイオン (m/z 178.0776, 179.0849, 190.0775, 203.0853, 217.1009)， 三環構造を含むフラグメントイオン (m/z 191.0854, 205.1005, 218.1087, 233.1323) が NDSRIs の構造と一致した (図 4)。 また， 検出されたフラグメントイオンすべてが， ノルトリプチンの MS/MS スペクトルからも検出された。 これは， ニトロソノルトリプチンのニトロソ基の結合が構造的に弱かったため， ニトロソ基を持たないフラグメントイオンのみが生成したことで， ノルトリプチンから検出されたフラグメントイオンと一致したと思われる。

アモキサピンの反応溶液については， 三環構造を含むフラグメントイオン (m/z 193.0519, 228.0206, 244.0394, 257.0471, 269.0472)， 三環構造のベンゼン環 1 つと七員環を示すフラグメントイオン (m/z 230.0178, 245.0472, 271.0443)， ピペラジン部分のフラグメントイオン (m/z 245.1009)， 三環構造及びピペラジン部分を含むフラグメントイオン (m/z 312.0892) が NDSRIs の構造と一致した (図 5)。 また， m/z 312.0892 以外のフラグメントイオンが， アモキサピンの MS/MS スペクトルからも検出された。 ノルトリプチンの反応液と同様に， ニトロアモキサピンにおいてもニトロソ基の結合が構造的に弱いと， ニトロソ基を持たないフラグメントイオンが多く検出され， アモキサピンの MS/MS スペクトルと一致したものが多いのではないと思われる。

アトモキセチンの反応溶液については， 炭素鎖部分のフラグメントイオン (m/z 115.0538, 117.0694, 118.0651)， 1 つのベンゼン環及び側鎖部分のフラグメントイオン (m/z 146.0958, 177.1015) が NDSRIs の構造と一致した (図 6)。 今回検出された 5 つのフラグメントイオンすべてに， ニトロソ化した部分が含まれていたため， アトモキセチンの MS/MS スペクトルと一致するフラグメントイオンは検出されなかった。

パロキセチンの反応溶液については、5.8 分のピークのみが NDSRI の構造と一致した。ベンゾジオールのベンゼン環を含むフラグメントイオン (m/z 147.0440), ベンゼン環とピペリジンが繋がっている部分のフラグメントイオン (m/z 176.0869, 177.0945, 192.1182) が検出された (図 7)。パロキセチンとパロキセチンの NDSRI の共通構造である m/z 192.118 のフラグメントイオンが、パロキセチンの MS/MS スペクトルからも検出された。

ミラベクロンの反応溶液については、NDSRI の精密質量と同じ m/z を示す 3 つのピークが検出されたが、これらのピークからは NDSRI の構造を示すフラグメントイオンは検出されなかった。

シルデナフィルの反応溶液については、5.2 分のピークのみが NDSRI の構造と一致した。ニトロソ基とピペラジン部分がない構造のフラグメントイオン (m/z 312.1574, 404.1378) が検出された (図 8)。今回生成の確認を行ったシルデナフィルの NDSRI は、シルデナフィルの 3 級アミンのメチルが脱離した後にニトロソ化が起こり生成される化合物であり、2 級アミンがニトロソ化した NDSRI とは、生成過程が異なる。そのため、イオン化する部位や構造上の各原子結合の強さがシルデナフィルとは異なるため、シルデナフィルの MS/MS スペクトルと一致するフラグメントイオンが、検出されなかったのではないかと考えられる。

シナカルセトの反応溶液については、ナフタレン構造部分のフラグメントイオン (m/z 155.0858, 159.0418) が NDSRI の構造と一致した (図 9)。シナカルセトの MS/MS スペクトルからも同じナフタレン構造部分のフラグメントイオンしか検出されなかった。

10% 塩酸水溶液及び 25% 酢酸水溶液に溶解させた両反応条件において、ミラベクロン以外の試料から NDSRI と考えられるピークが検出された。

ミラベクロンの反応条件の検討

ミラベクロンは、強酸及び強塩基条件で加水分解することが示されている¹⁰⁾。ミラベクロンの NDSRI が検出されなかった反応溶液からも、加水分解により生成される分解物のプロトン付加体の質量 (m/z 257.1648) が検出されている。さらにフラグメントイオン (m/z 120.0807, 103.0543) も既報の数値と類似していた (図 10)。このことから、ミラベクロンの反応溶液については、酸性条件で反応を行ったことでミラベクロンの分解が起こり、NDSRI のピークが確認できなかったのではないかと考えられる。そこで、反応溶液の pH を変えて検討を行った。その結果、pH 6 の

酢酸 / 酢酸ナトリウム緩衝液及び水のみで溶解させた反応溶液において、NDSRI のプロトン付加体と同じ精密質量のピークが 4.1 分に検出された (図 11)。さらに MS/MS スペクトルから、アミド基が付いているベンゼン環部分のフラグメントイオン (m/z 106.0651, 120.0805, 146.0597), チアゾール環部分のフラグメントイオン (m/z 113.0167, 115.0323, 128.0493, 141.0114), ベンゼン環を含むフラグメントイオン (m/z 133.0520), 2 つのベンゼン環が含まれたフラグメントイオン (m/z 175.0862), チアゾール環とアミド基が付いているベンゼン環が含まれたフラグメントイオン (m/z 242.0738, 247.0768, 260.0845, 271.1006, 289.1111) が NDSRI の構造と一致した (図 12)。 m/z 113.0169, 115.0323, 120.0805, 128.0493, 141.0114, 146.0597, 242.0738, 260.0845 のフラグメントイオンがミラベクロンからも検出された。

今回検討した原薬化合物すべてから、NDSRI と考えられるピークを検出することができた。ピークの検出については、NDSRI とニトロソ化反応前の原薬化合物のフラグメントイオンのパターンが類似しているものが多く、容易に行うことができた。これは、ニトロソ化した部分の結合が構造的に非常に弱く、質量分析計でエネルギーを与えた際に開裂しやすいため、原薬化合物と同じフラグメントイオンが生成しやすいのではないかと考えられる。そのため、質量分析計を用いて、NDSRI と考えられるピークを検出する場合は、ニトロソ化する前の原薬化合物の MS/MS スペクトルが、非常に参考になることが分かった。しかしながら、今回の手法はあくまでも NDSRI の推定であり、同定するためには標準物質を用いて比較を行うか、単離し NMR 等で構造決定を行う必要がある。アミン構造を持つ医薬品原薬関連化合物は無数に存在するため、すべての標準物質を用意することは現実的に難しい。従って、2 級アミンを持つ医薬品原薬関連化合物から、NDSRI が生成する可能性があるか確認するためのスクリーニング方法として、今回検討した手法が活用できるのではないかと考える。

ニトロソ化試薬を用いたニトロソ化反応

異なるニトロソ化条件から得られた化合物ピークの精密質量及び MS/MS スペクトルの解析結果が一致すれば、NDSRI の推定精度がより高くなると考え、市販されているニトロソ化試薬を用いた反応溶液についても測定を行うことにした。この反応溶液から検出されたピークの RT 及び MS/MS スペクトルが、亜硝酸ナトリウムを用いた反応溶液で検討した結果と一致するのか確認を行った。なお、ニトロソ化試薬を用いた

反応溶液の分析は、亜硝酸ナトリウムを用いた反応溶液と同じ条件で行った。

その結果、シルデナフィル以外の原薬化合物について、亜硝酸ナトリウムの反応溶液と同じRTにピークが検出された（図13）。また、MS/MS スペクトルを比較するとフラグメントイオンのパターンが一致した（図14）。従って、亜硝酸ナトリウムを用いた反応溶液で検出したNDSRIsと同様の化合物が生成したと考えられ、今回の検討でNDSRIsが生成したことが強く示唆された。また、このニトロソ化試薬は、2級アミンに反応しニトロソ基を生成するため、2級アミンを構造内に持たないシルデナフィルからは、今回検討したNDSRIsは生成しなかったのではないかと考えている。

ニトロソアトモキセチンの同定

今回、アトモキセチンから生成するNDSRIsは、*N*-ニトロソアトモキセチンと判断し分析を行ってきた。*N*-ニトロソアトモキセチンについては、化学合成したものを入手することができたため、これを標準物質とし、アトモキセチンの反応溶液から*N*-ニトロソアトモキセチンと考えたピークが誤りではないか確認を行った。分析を行ったところ、6.0分のところに *m/z* 285.1597 のピークが検出された。このピークをアトモキセチンと亜硝酸ナトリウムの反応溶液から検出されたピークと比較するとRT及びMS/MS スペクトルが一致した（図15）。このことから、アトモキセチンについては、亜硝酸ナトリウムを用いた反応溶液及びニトロソ化試薬の反応液で推定したNDSRIsのピークが*N*-ニトロソアトモキセチンであると確認できた。

謝 辞

N-ニトロソアトモキセチンをご提供いただいた、立山化成株式会社様に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 「医薬品におけるニトロソアミン類の混入リスクに関する自主点検後の対応について」(令和7年7月24日付け医薬審発 0724 第1号・医薬安発 0724 第3号・医薬監麻発 0724 第1号厚生労働省医薬・生活衛生局医薬品審査管理課長、医薬安全対策課長及び監視指導・麻薬対策課長連名通知)
- 2) 米田哲也, 高山信幸, 竹林憲司, 小笠原勝, 薬事研究会分析部会: 質量分析計を活用した医薬品中のニトロソアミン不純物の分析, 富山県薬事総合

研究開発センター年報, 48, p. 52~56 (2021)

- 3) 米田哲也, 高山信幸, 小木曾英夫, 小笠原勝, 薬事研究会分析部会: 質量分析計を活用した医薬品中のニトロソアミン不純物の分析 (第2報), 富山県薬事総合研究開発センター年報, 49, p. 35~41 (2022)
- 4) 米田哲也, 高山信幸, 小笠原勝, 薬事研究会分析部会: 質量分析計を活用した医薬品中のニトロソアミン不純物の分析 (第3報), 富山県薬事総合研究開発センター年報, 50, p. 33~37 (2023)
- 5) 医薬品におけるニトロソアミン類混入リスクへの対策 3. ニトロソアミン類混入に関する個別薬剤についての通知等

<https://www.pmda.go.jp/safety/info-services/drugs/0371.html>

- 6) 医薬品におけるニトロソアミン類混入リスクへの対策 4. 通知に基づき参照すべきニトロソアミン類の一覧

<https://www.pmda.go.jp/safety/info-services/drugs/0371.html>

- 7) Jordan D. Galloway, Cristian Sarabia, James C. Fetting, Hrant P. Hratchian, Ryan D. Baxter: Versatile New Reagent for Nitrosation under Mild Conditions, Org. Lett. 23, p. 3253 (2021)
- 8) Ryota Nomura, Takahiko Taniguchi, Koji Kitada, Mamoru Otsuki, Takuma Tamai, Kazuya Suzuoki, Rintaro Yokoi, Kanako Kondo, Osamu Uchikawa: Three-Pronged Approach (Active Pharmaceutical Ingredients, Excipients, and NO_x-Free Air) Successfully Suppressed the Formation of Nitroso-atomoxetine to 0.097 ppm, Org. Process Res. Dev. 29, p. 2259 - 226 (2025)
- 9) 田中 茂, 橋本 芳一: 亜硝酸ナトリウム溶液のpHコントロールによる窒素酸化物(一酸化窒素, 二酸化窒素)希薄定濃度ガスの調製, 分析化学, 26, p. 285-290 (1977)
- 10) Pradipbhai D. Kalariya, Mahesh Sharma, Prabha Garg, Jagadeshwar Reddy Thota, Srinivas Ragampetaac, M. V. N. Kumar Talluri: Characterization of stress degradation products of mirabegron using UPLC-QTOF-MS/MS and in silico toxicity predictions of its degradation products, RSC Adv. 5, p. 31024-31038, (2015)

表 1. 医薬品原薬関連化合物及びNDSRIsの一覧

化合物名	組成式	[M+H ⁺]	NDSRIs 組成式	NDSRIs [M+H ⁺]	NDSRIs CAS Number	NDSRIs Pubchem CID
ノルトリプチン	C ₁₉ H ₂₁ N	264. 1747	C ₁₉ H ₂₀ N ₂ O	293. 1648	55855-42-0	165459181
アモキサピン	C ₁₇ H ₁₆ ClN ₃ O	314. 1055	C ₁₇ H ₁₅ ClN ₄ O ₂	343. 0956	NA	172866447
アトモキセチン	C ₁₇ H ₂₁ NO	256. 1696	C ₁₇ H ₂₀ N ₂ O ₂	285. 1598	3028194-77-3	169444758
パロキセチン	C ₁₉ H ₂₀ FN ₃ O ₃	330. 1500	C ₁₉ H ₁₉ FN ₂ O ₄	359. 1402	2361294-43-9	165599028
ミラベクロン	C ₂₁ H ₂₄ N ₄ O ₂ S	397. 1693	C ₂₁ H ₂₃ N ₅ O ₃ S	426. 1594	3017159-61-1	169432921
シルデナフィル	C ₂₂ H ₃₀ N ₆ O ₄ S	475. 2122	C ₂₁ H ₂₇ N ₇ O ₅ S	490. 1867	NA	513543447
シナカルセト	C ₂₂ H ₂₂ F ₃ N	358. 1778	C ₂₂ H ₂₁ F ₃ N ₂ O	387. 1679	3036581-83-3	169444600

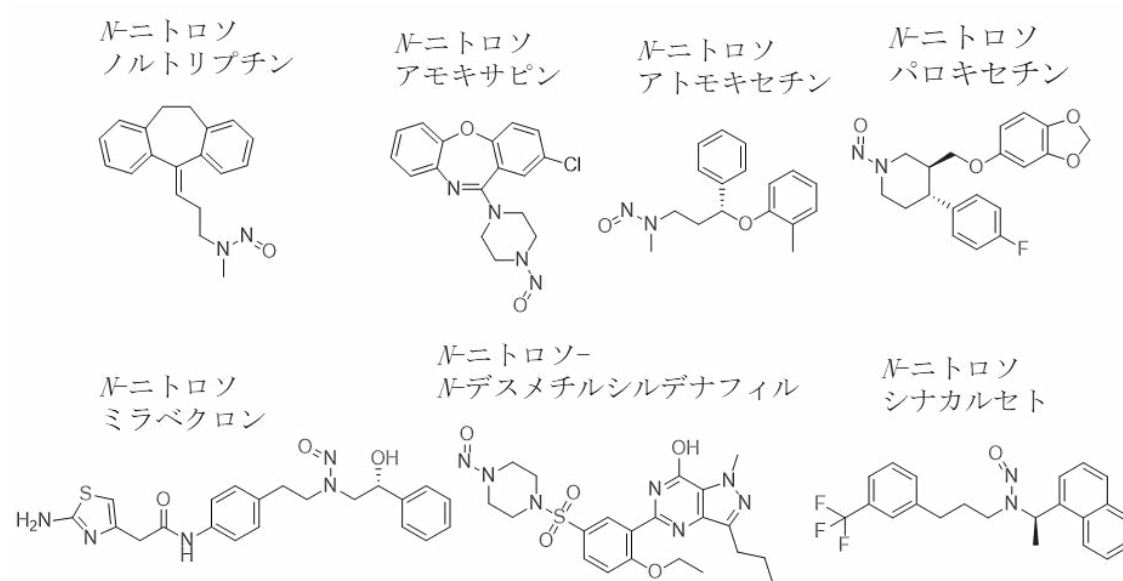
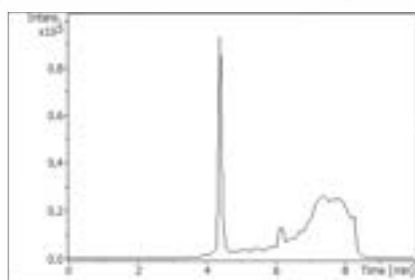
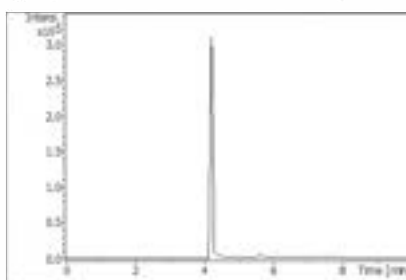


図 1. NDSRIsの構造式一覧

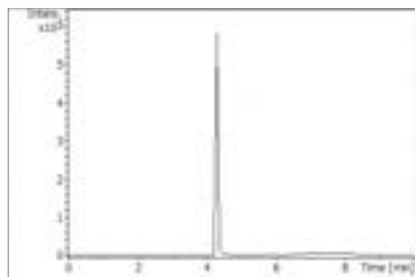
$[M+H]^+$ m/z 264.1747 : ノルトリプチン (4.4 min)



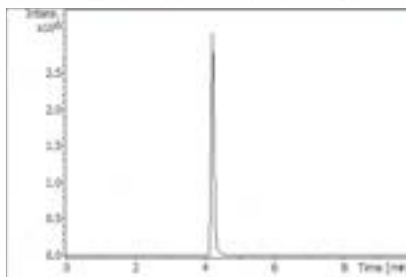
$[M+H]^+$ m/z 314.1055 : アモキサピン (4.2 min)



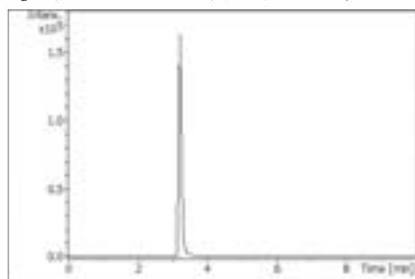
$[M+H]^+$ m/z 256.1696 : アトモセチン (4.3 min)



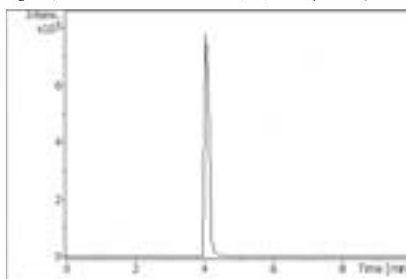
$[M+H]^+$ m/z 330.1500 : パロキセチン (4.2 min)



$[M+H]^+$ m/z 397.1693 : ミラベクロン (3.3 min)



$[M+H]^+$ m/z 475.2122 : シルデナフィル (4.1 min)



$[M+H]^+$ m/z 358.1778 : シナカルセット (4.5 min)

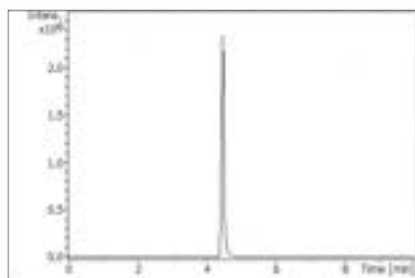
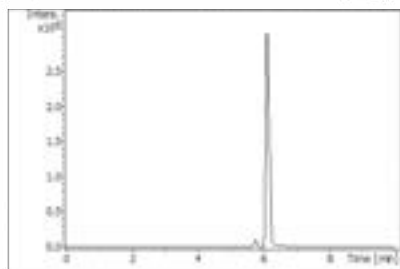
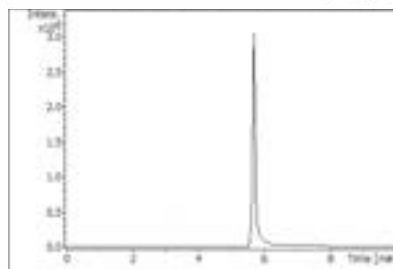


図2. 各原薬化合物のプロトン付加体の精密質量を抽出したMSスペクトル

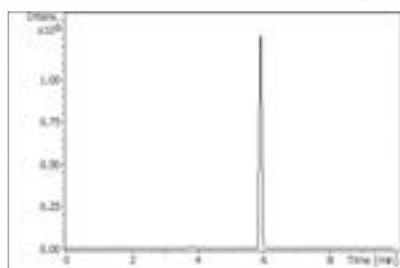
[M+H]⁺ m/z 293.1648 : ノルトリプチンの反応溶液



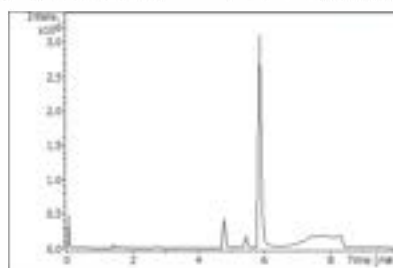
[M+H]⁺ m/z 343.0956 : アモキサビンの反応溶液



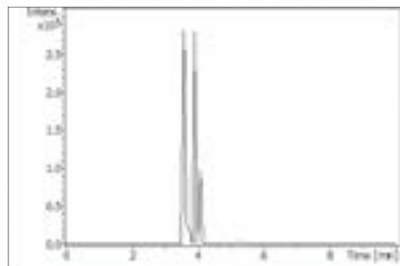
[M+H]⁺ m/z 285.1598 : アトモキセチンの反応溶液



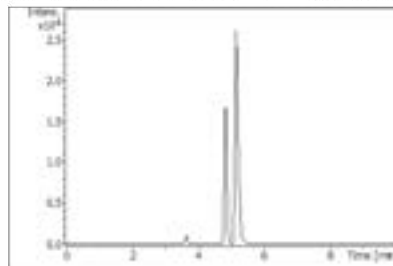
[M+H]⁺ m/z 359.1402 : パロキセチンの反応溶液



[M+H]⁺ m/z 426.1594 : ミラベクロンの反応溶液



[M+H]⁺ m/z 490.1867 : シルデナフィルの反応溶液



[M+H]⁺ m/z 387.1679 : シナカルセトの反応溶液

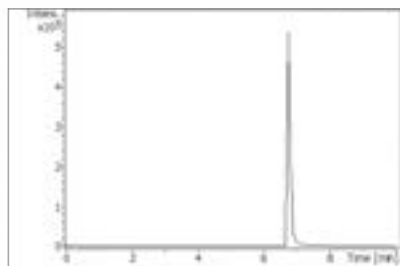
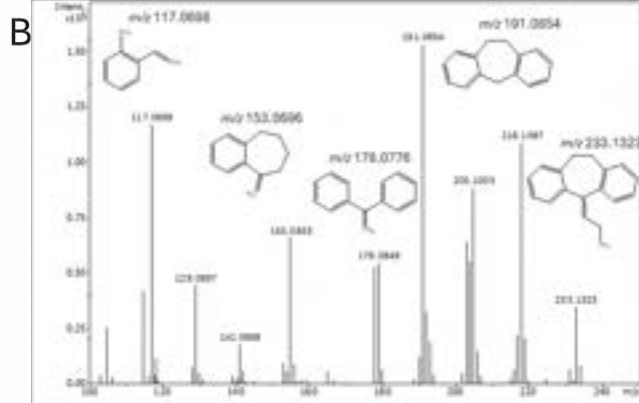


図3. NDSRI_sのプロトン付加体の精密質量を抽出したMSスペクトル

A

name	RT[min]	m/z meas.	M meas.	$\Delta m/z$ [mDa]
<i>N</i> -ニトロソ ノルトリプチン	6.15	293.16416	292.15685	-0.684



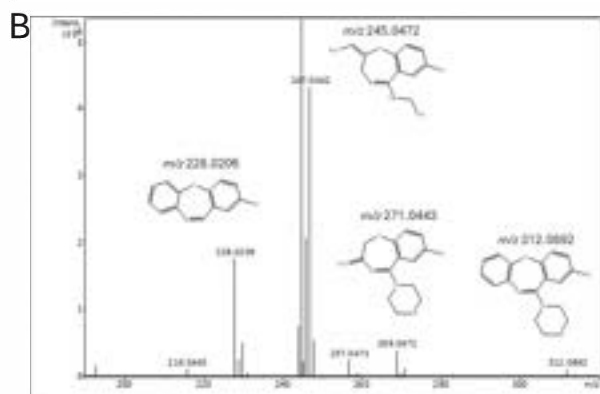
C

Ion Formula	m/z meas.
$[C_8H_8]+H^+$	105.0699
$[C_9H_7]^+$	115.0541
$[C_9H_7+H]^+H^+$	117.0698
$[C_{10}H_9]^+$	129.0697
$[C_{11}H_{11}-2H]^+$	141.0698
$[C_{12}H_9]^+$	153.0696
$[C_{12}H_{13}-2H]^+$	155.0853
$[C_{14}H_9]+H^+$	178.0776
$[C_{14}H_{12}-H]^+$	179.0849
$[C_{15}H_{11}-H]^+$	190.0775
$[C_{15}H_{12}-H]^+$	191.0854
$[C_{16}H_{13}-2H]^+$	203.0853
$[C_{16}H_{13}]^+$	205.1005
$[C_{17}H_{15}-2H]^+$	217.1009
$[C_{17}H_{15}-H]^+$	218.1087
$[C_{18}H_{17}]^+$	233.1323

図4. ノルトリプチンの反応溶液から検出されたNDSRIsピークのRT及び精密質量 (A) , MS/MSスペクトル (B) , 構造が一致したフラグメントイオン (C)

A

name	RT[min]	m/z meas.	M meas.	$\Delta m/z$ [mDa]
<i>N</i> -ニトロソ アモキサピン	5.69	343.09727	342.08999	1.64



C

Ion Formula	m/z meas.
$[C_{13}H_7NO]^+$	193.0519
$[C_{13}H_7ClNO]^+$	228.0206
$[C_{12}H_6ClN_2O]+H^+$	230.0178
$[C_{13}H_7ClN_2O+H]^+H^+$	244.0394
$[C_{13}H_9ClN_2O]+H^+$	245.0472
$[C_{12}H_{12}N_4O_2]+H^+$	245.1009
$[C_{14}H_9ClN_2O]+H^+$	257.0471
$[C_{15}H_{11}ClN_2O-H]^+$	269.0472
$[C_{14}H_{12}ClN_3O-2H]^+$	271.0443
$[C_{17}H_{15}ClN_3O]^+$	312.0892

図5. アモキサピンの反応溶液から検出されたNDSRIsピークのRT及び精密質量 (A) , MS/MSスペクトル (B) , 構造が一致したフラグメントイオン (C)

A

name	RT[min]	m/z meas.	M meas.	$\Delta m/z$ [mDa]
<i>N</i> -ニトロソ アトモキセチン	5.9	285.1591	284.15165	-0.659

B



C

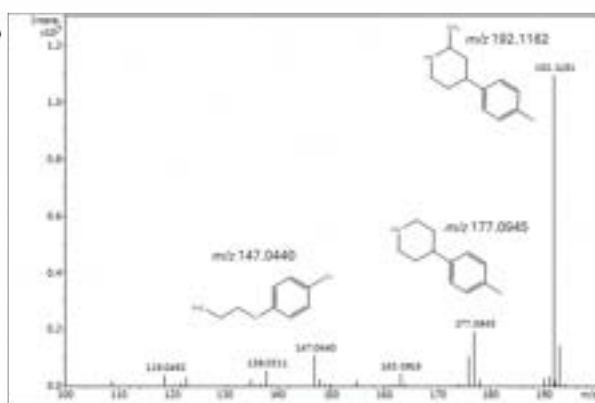
Ion Formula	m/z meas.
$[C_4H_8N_2O_2-H]^+$	115.0538
$[C_4H_8N_2O_2]+H^+$	117.0694
$[C_4H_8N_2O_2+H]+H^+$	118.0651
$[C_{10}H_{13}N-H]^+$	146.0958
$[C_{10}H_{13}N_2O]^+$	177.1015

図6. アトモキセチンの反応溶液から検出されたNDSRIsピークのRT及び精密質量 (A) , MS/MSスペクトル (B) , 構造が一致したフラグメントイオン (C)

A

name	RT[min]	m/z meas.	M meas.	$\Delta m/z$ [mDa]
<i>N</i> -ニトロソ パロキセチン	5.84	359.13978	358.1325	-0.383

B



C

Ion Formula	m/z meas.
$[C_9H_9O_2-H]^+$	147.0440
$[C_{11}H_{12}FN-H]^+$	176.0869
$[C_{11}H_{12}FN]^+$	177.0945
$[C_{12}H_{14}FN]+H^+$	192.1182

図7. パロキセチンの反応溶液から検出されたNDSRIsピークのRT及び精密質量 (A) , MS/MSスペクトル (B) , 構造が一致したフラグメントイオン (C)

A

name	RT[min]	m/z meas.	M meas.	$\Delta m/z$ [mDa]
<i>N</i> -ニトロソ- <i>N</i> -デスメチルシルデナフィル	5.15	490.18618	489.1789	-0.537

C

Ion Formula	m/z meas.
$[C_{17}H_{19}N_4O_2]+H^+$	312.1574
$[C_{19}H_{21}N_5O_4S]+H^+$	404.1378

B

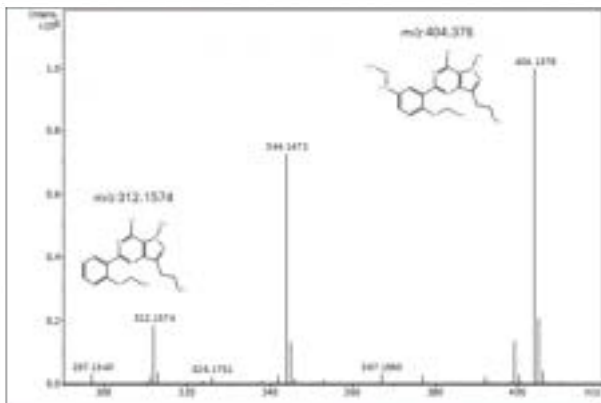


図8. シルデナフィルの反応溶液から検出されたNDSRIピークのRT及び精密質量 (A) , MS/MSスペクトル (B) , 構造が一致したフラグメントイオン (C)

A

name	RT[min]	m/z meas.	M meas.	$\Delta m/z$ [mDa]
<i>N</i> -ニトロソシナカルセト	6.76	387.16815	386.16126	0.281

C

Ion Formula	m/z meas.
$[C_{12}H_{11}]^+$	155.0858
$[C_8H_6F_3]^+$	159.0418

B

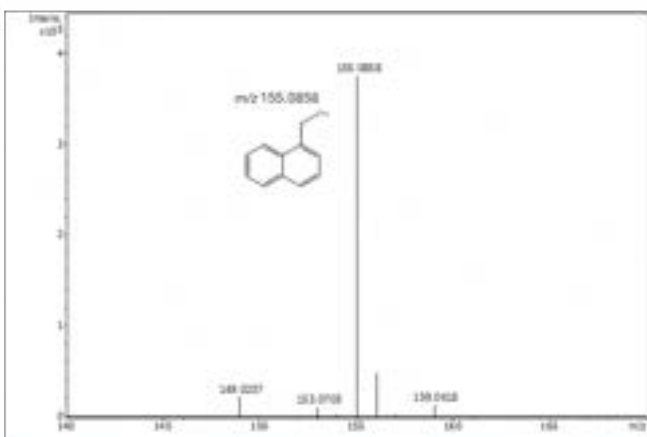


図9. シナカルセトの反応溶液から検出されたNDSRIピークのRT及び精密質量 (A) , MS/MSスペクトル (B) , 構造が一致したフラグメントイオン (C)

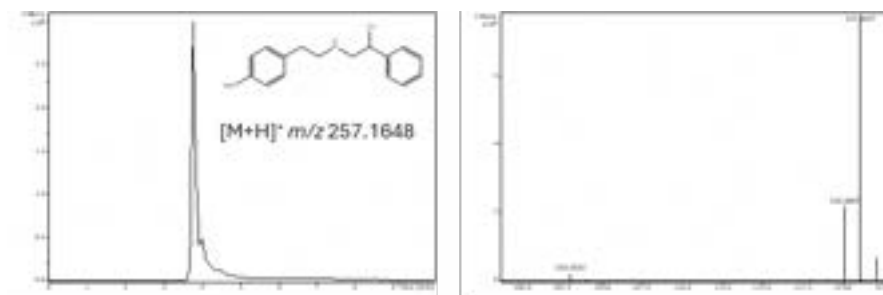


図10. ミラベクロンの反応溶液から検出された分解物
 左：分解物のプロトン付加体の精密質量 ($[M+H]^+$ m/z 257.1648)
 を抽出したMSスペクトル，右： m/z 257.1648のMS/MSスペクトル

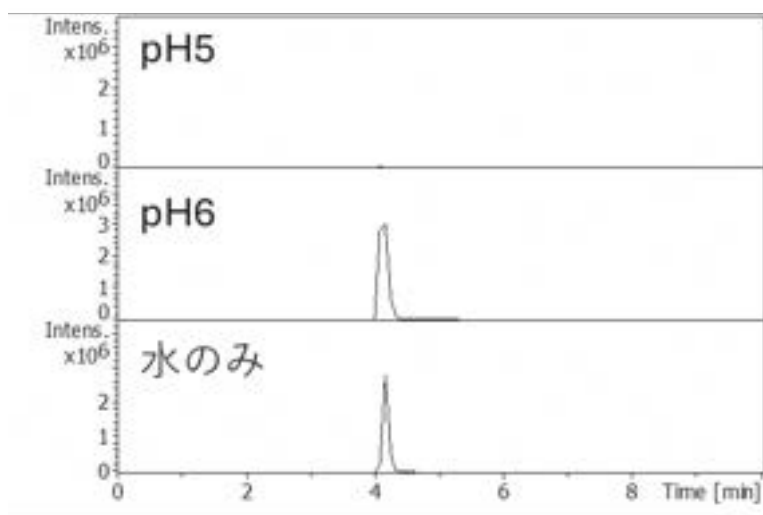


図11. ミラベクロンのNDSRIsのプロトン付加体の精密質量 ($[M+H]^+$ m/z 426.1594) を抽出したMSスペクトル
 上：pH5の酢酸/酢酸ナトリウム緩衝液で溶解，中：pH6の
 酢酸/酢酸ナトリウム緩衝液で溶解，下：水で溶解

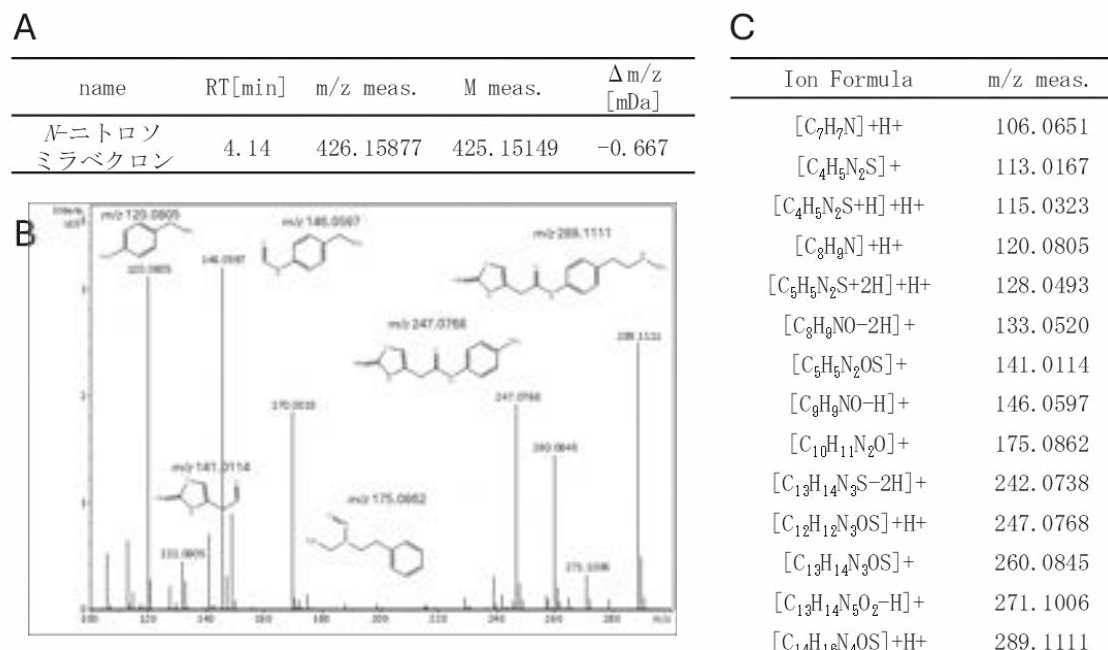


図12. ミラベクロンの反応溶液から検出されたNDSRIsピークのRT及び精密質量 (A) , MS/MSスペクトル (B) , 構造が一致したフラグメントイオン (C)

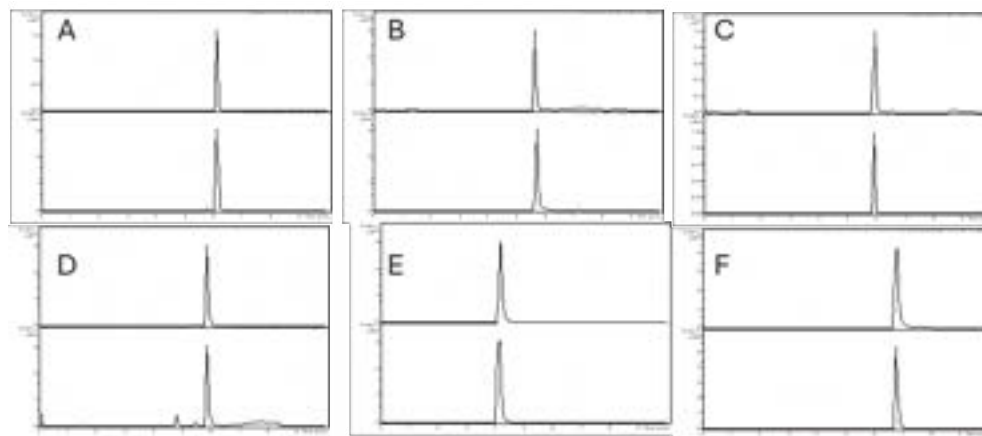


図13. ニトロ化試薬の反応液 (上) , 亜硝酸ナトリウムの反応液 (下) のMSスペクトルスペクトルの比較

A: ノルトリブチン (m/z 293.1648), B: アモキサピン (m/z 343.0956), C: アトモキセチン (m/z 285.1598), D: パロキセチン (m/z 359.1402), E: ミラベクロン (m/z 426.1594), F: シナカルセト (m/z 387.1679)

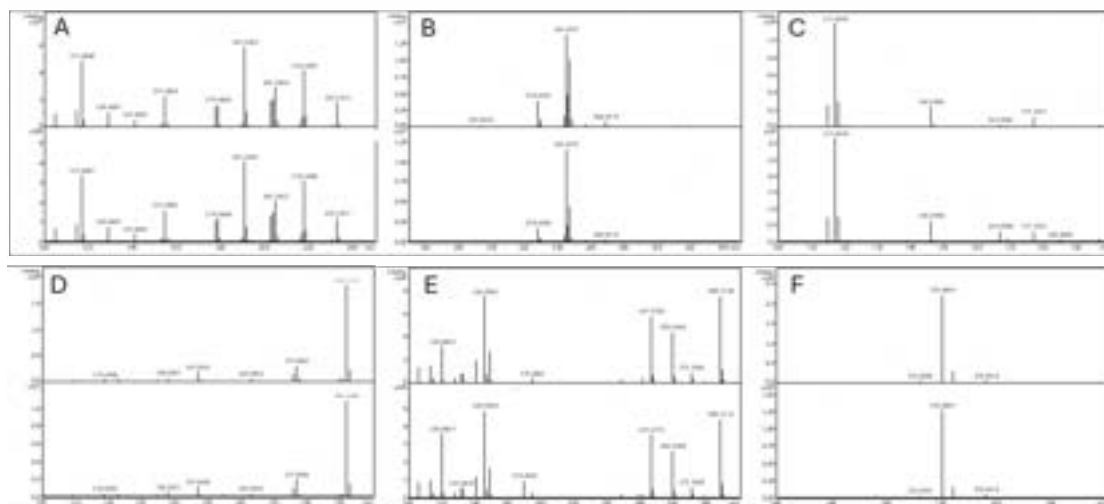


図14. ニトロ化試薬の反応液（上），亜硝酸ナトリウムの反応液（下）のMS/MSスペクトル
 スペクトルの比較
 A: ノルトリプチン，B:アモキサピン，C:アトモキセチン，D:パロキセチン，E:ミラベクロン，
 F:シナカルセト

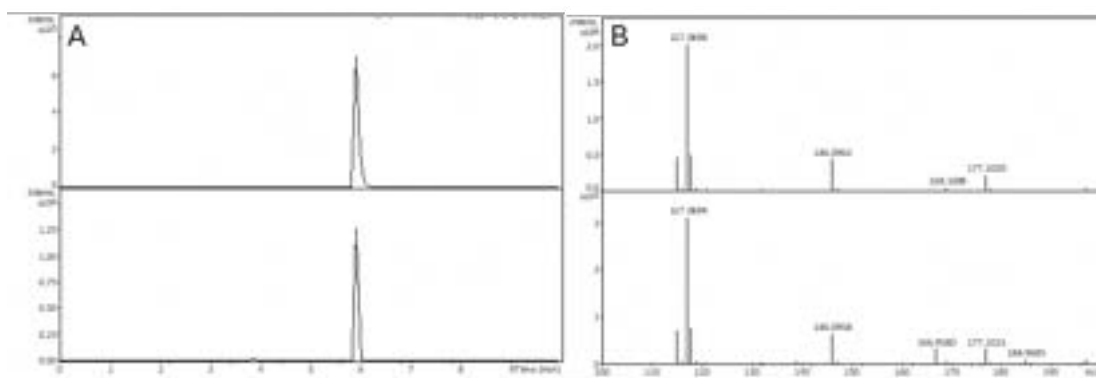


図15. *N*-ニトロソアトモキセチンのプロトン付加体の精密質量 ($[M+H]^+$ m/z 285.1598) のMSスペクトル(A) 及びそのMS/MSスペクトルのフラグメント(B) の比較（上部：合成品，下部：亜硝酸ナトリウムの反応液）

ガスクロマトグラフィー質量分析計による医薬品中 DNA 反応性 (変異原性) 不純物の分析

高山 信幸, 薬事研究会分析部会

Analysis of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals by Gas Chromatography- Mass Spectrometry

Nobuyuki TAKAYAMA,

The Chemical Analysis Study Group in Toyama Pharmaceutical Research Association

要 旨

医薬品に含まれる発がん性を有する不純物の管理については, 日米欧医薬品規制調和国际会議で国際的に調和された M7 ガイドライン「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性 (変異原性) 不純物の評価及び管理」を準拠する必要がある。医薬品中の変異原性不純物は極めて微量であり, 測定濃度が数 ng/mL 程度となることも多い。このような微量な成分を分析する場合, 検出感度が高い質量分析計を用いることが適切である。質量分析計は試料マトリックスの影響を受けやすいため, 適切な分析方法を構築する必要がある。本研究では, ガスクロマトグラフィー-四重極型質量分析計 (GC-MS) を用いて, 医薬品中 DNA 反応性 (変異原性) 不純物の測定における分析方法の構築を図る。

Summary

Pharmaceutical products must comply with the internationally harmonized International Council for Harmonisation M7 guideline, *Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk*, which provides recommendations for the assessment and control of potentially carcinogenic impurities in pharmaceuticals. Because mutagenic impurities are typically present at extremely low concentrations, often in the low ng/mL range, highly sensitive analytical techniques are required for their detection and quantification. Mass spectrometry is well suited for this purpose because of its high sensitivity. However, mass spectrometers are susceptible to the effects of the sample matrix, and it is thus necessary to establish an appropriate analytical method. In this study, we develop an analytical method for analyzing DNA-reactive (mutagenic) impurities in pharmaceuticals using gas chromatography-quadrupole mass spectrometry.

キーワード: DNA 反応性 (変異原性) 不純物, スルホン酸エステル系化合物, ガスクロマトグラフィー-四重極型質量分析計

Key words: DNA reactive (mutagenic) impurities, sulfonic ester compounds, gas chromatography-quadrupole mass spectrometry

緒 言

発がん性を有する不純物の管理については, 日米欧医薬品規制調和国际会議 (International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use: ICH) で国際的に調和された M7 ガイドライン「潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性 (変異原性) 不純物の評価及び管理」に準拠する必要がある¹⁾。不純物の許容量は表 1 で示すようにガイドラインで定められており, 投与期間によって許容摂取量は決定される。一番厳格な条件では投与期間を 10 年以上とした場合で, 個々の不純物は 1.5 µg/day 以下であり, 総

量では 5 µg/day 以下となっている。0.1 g の医薬品を 10 年以上, 1 日 1 錠投与することを仮定すると, 医薬品中に許容される不純物の濃度は個々の場合, 15 µg/g 以下であり, 総量では, 50 µg/g 以下となる。また, この医薬品 0.1 g から不純物を 10 mL の溶媒に抽出したとすると, 試料溶液中の個々の不純物の許容量は $15 \mu\text{g/g} \times 0.1 \text{ g} \div 10 \text{ mL} = 0.15 \mu\text{g/mL}$ (150 ng/mL) となる。試験者によって試料の秤取量や希釈効率は変わってくるが, 概ね ng/mL レベルの分析精度が要求される。そのため, 検出感度の高い質量分析計 (MS) を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) もし

くはガスクロマトグラフィー（GC）に連結した HPLC-MS や GC-MS が利用されることが多い^{2,4)}。しかしながら、MS 検出器は試料マトリックスの影響を受けやすいため、正確な定量結果を得るためには、適切なバリデーションが必要である。

スルホン酸は医薬品の原薬の合成において、塩を形成する対イオンとして広く用いられるが、原薬合成の副反応生成物であるスルホン酸エステル系化合物は、発がん性を有する、もしくは、疑いのある不純物である。高血圧症の治療薬であるアムロジピン錠は、アムロジピンとベンゼンスルホン酸が反応して製造されるアムロジピンベシル酸塩を原薬としている。そのため、本医薬品の製造過程で使用されるベンゼンスルホン酸が残留アルコールと反応して、ベンゼンスルホン

酸エステル系化合物を生成する可能性がある（図 1）。ベンゼンスルホン酸エステル系化合物の分析は、ヘッドスペースガスクロマトグラフィー（HS-GC）による報告がなされている^{5,6)}。HS-GC では試料バイアル中の気相成分のみを装置に導入するため、医薬品中に存在する夾雑成分の影響を受けにくいといった利点があるが、気化効率を増加させるため、前処理を行い測定対象成分の誘導体化が必要となる。本研究では、GC-MS を用い、図 1 で示されるアムロジピン錠中の変異原性不純物（ベンゼンスルホン酸メチル、ベンゼンスルホン酸エチル、トルエンスルホン酸メチル、トルエンスルホン酸エチル）を測定対象成分とし、特殊な前処理を必要としない分析方法について検討を行ったため、報告する。

表 1. DNA 反応性（変異原性）不純物の許容量

投与期間 許容摂取量	1 ヶ月以下	1 ヶ月超 1 年以下	1 年超 10 年以下	10 年超
個々 (μg/day)	120	20	10	1.5
総量 (μg/day)	120	60	30	5

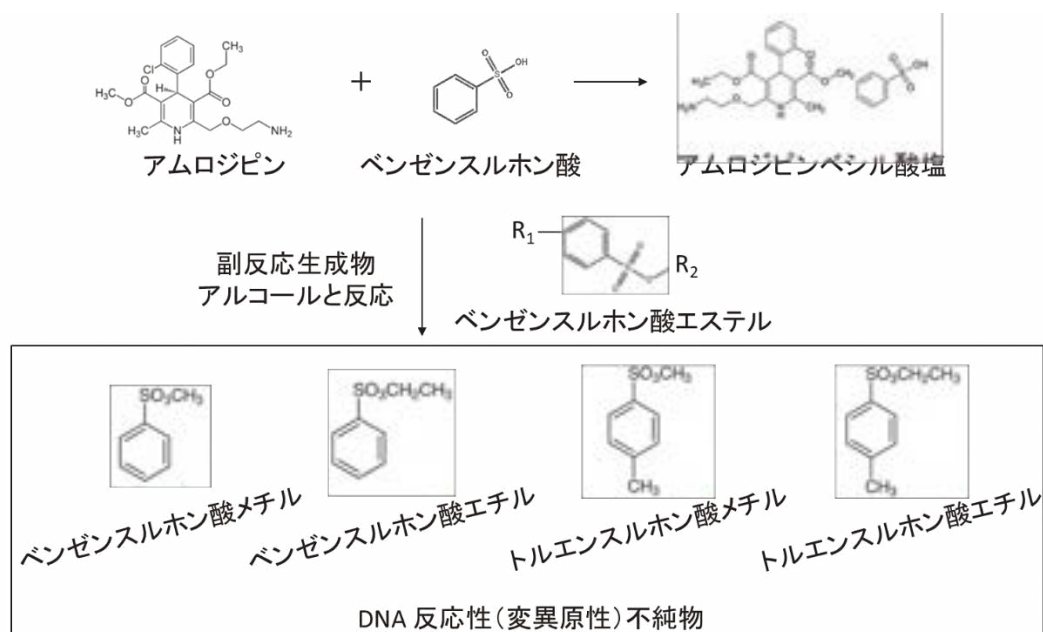


図 1. DNA 反応性（変異原性）不純物の生成例

方 法

1 試薬

標準溶液の調製に用いるベンゼンスルホン酸メチル、ベンゼンスルホン酸エチル、トルエンスルホン酸メチル、トルエンスルホン酸エチルは、東京化成工業より購入した。抽出及び、標準溶液の調製に使用するヘキサン（特級）は、富士フイルム和光純薬より購入

した。超純水は Milli-Q Direct 8（メルク、ダルムシュタット、ドイツ）により製造した。

2 装置

GC-MS は、GCMS-QP2010 SE（島津製作所、京都）を使用した。カラムは、HP-1ms（長さ 30 m、内径 0.25

mm, 膜厚 0.25 μm , Agilent) を使用した. 測定時のカラムの温度は, 下記の昇温プログラム条件に設定した.

Step 1, 70°C で 2 min ホールド

Step 2, 15.0°C /min の割合で 340°C まで昇温

Step 3, 340°C で 3min ホールド

その他の分析時におけるパラメーターは表 2 に記載

した. 大気中の成分である水蒸気: $m/z = 18$, 窒素: $m/z = 28$, 二酸化炭素: $m/z = 44$ が検出されないように, スキャンの範囲を, $m/z = 50\text{--}220$ と設定した. 試料バイアルは, 島津製作所の透明ガラス 1.5 mL, フッ素フィルム / シリコンセプタムを使用した. 遠心分離機は, 卓上用小型遠心機 KA-1000 (久保田製作所, 東京) を使用した.

表 2. 測定時における GC-MS のパラメーター

	設定項目	設定値
試料導入部	試料注入量	1 μL
	注入モード	スプリットレス
	気化室温度	280°C
	キャリアーガス	ヘリウム
	カラム流量	2.4 mL/min
	線速度	56.8 cm/sec
	ページ流量	3.0 mL/min
	スプリット比	30.0
検出器	イオン源温度	260°C
	インターフェース温度	260°C
	溶媒溶出時間	1.5 min
	測定モード	スキャン
	測定の開始時間	1.5 min
	測定の終了時間	23 min
	測定質量電荷比 (m/z)	50-220

3 標準溶液の調製

本研究で用いたアムロジピン錠は重量が 0.2 g であり, 1 日に 1 回経口投与される製剤である. 投与期間が 10 年以上となることを前提とすると, 個々の不純物の許容量は 1 錠当たり, 7.5 $\mu\text{g/g}$, 総量では 25 $\mu\text{g/g}$ となる. この製剤 1 錠 (0.2 g) から不純物を 10 mL のヘキサンで抽出すると仮定すると, 試料溶液中の個々の不純物の許容量は $7.5 \mu\text{g/g} \times 0.2 \text{ g} \div 10 \text{ mL} = 0.15 \mu\text{g/mL}$ (150 ng/mL) となり, 同様に総量について計算すると, 0.5 $\mu\text{g/mL}$ (500 ng/mL) となる. 本研究では不純物であるベンゼンスルホン酸メチル, ベンゼンスルホン酸エチル, トルエンスルホン酸メチル, トルエンスルホン酸エチルの濃度がそれぞれ 150 ng/mL となるようにヘキサンで溶解・希釈操作を行い, 標準溶液を調製した. また, 検量線用の標準溶液は, 60% (90 ng/mL), 80% (120 ng/mL), 100% (150 ng/mL), 120% (180 ng/mL), 140% (210 ng/mL)

となるように調製した.

4 試料溶液, 添加回収試験用試料溶液の調製

アムロジピン錠 1 錠, 超純水 3 mL, ヘキサン 5 mL を 10 mL 試験管に加え, スターラーで 30 分間, 攪拌を行った. 攪拌後, 遠心分離機 (5 分間, 3000 rpm) により分離を行い, ヘキサン相を 1 mL 採取し別の 10 mL 試験管に移す. この溶液にヘキサン 1 mL を加え, 試料溶液とする. 添加回収試験用試料溶液は, ベンゼンスルホン酸メチル, ベンゼンスルホン酸エチル, トルエンスルホン酸メチル, トルエンスルホン酸エチルの濃度がそれぞれ 100 $\mu\text{g/mL}$ の混合溶液となるように調製し, マイクロシリンジにより 0.015 mL をアムロジピン錠に添加した. その後の操作は, 試料の調製と同様に行う. 添加回収試験用試料溶液の不純物の最終濃度は, 150 ng/mL となる.

結 果

1 標準溶液のトータルイオンカレントクロマトグラム (TIC) による解析

選択イオンモニタリング (SIM) 測定で適切な m/z を設定するため、スキャンモードで測定を行い、トータルイオンカレントクロマトグラム (TIC) 及び、マススペクトルを取得した。標準溶液を測定した際の TIC を図 2 に示す。ベンゼンスルホン酸メチル (保持時間 8.63 min)、ベンゼンスルホン酸エチル (保持時間 9.24 min)、トルエンスルホン酸メチル (保持時間 9.77 min)、トルエンスルホン酸エチル (保持時間 10.32 min) が検出できており、それぞれの分離度は、ベンゼンスルホン酸メチルとベンゼンスルホン酸エチルで 15、ベンゼンスルホン酸エチルとトルエンスルホン酸メチルで 12、トルエンスルホン酸メチルとトルエンスルホン酸エチルで 13 であった。スキャンモードで取得した各保持時間におけるマススペクトルを図 3 に示す。

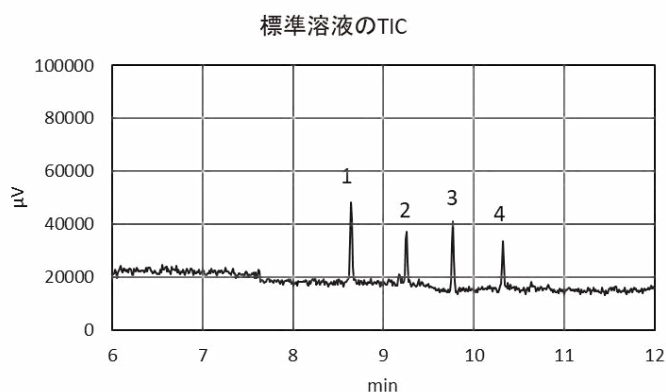


図 2. 標準溶液の TIC, 1. ベンゼンスルホン酸メチル, 2. ベンゼンスルホン酸エチル, 3. トルエンスルホン酸メチル, 4. トルエンスルホン酸エチル

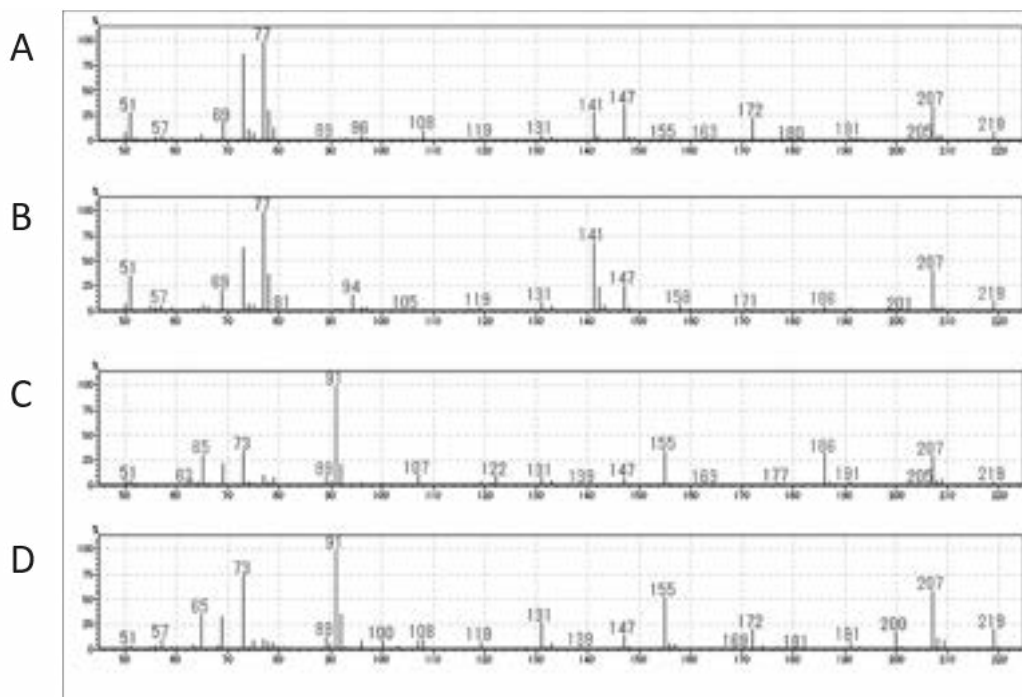


図 3. 各ピークでのマススペクトル, A. ベンゼンスルホン酸メチル (保持時間 8.63 min), B. ベンゼンスルホン酸エチル (保持時間 9.25 min), C. トルエンスルホン酸メチル (保持時間 9.77 min), D. トルエンスルホン酸エチル (保持時間 10.32 min)

図3のA及びBから分かるように、ベンゼンスルホン酸メチルとベンゼンスルホン酸エチルは、 $m/z = 77$ で最も強度が高かった。これは、ベンゼンの構造に由来する m/z であると考えられる。また、図3のC及びDにおいてトルエンスルホン酸メチルとトルエンスルホン酸エチルは、 $m/z = 91$ で最も強度が高かった。これは、トルエンの構造に由来する、 m/z であると考えられる。TIC測定では、スキャンで検出されたイオンを全て足し算しているため、ノイズとなるイオンも含めている。そのため、定量試験では、特定の m/z だけを設定して検出するSIM測定の方が精度の高い試験方法である。SIM測定において、ベンゼン

スルホン酸メチルとベンゼンスルホン酸エチルの検出には質量数電荷比を $m/z = 77$ 、トルエンスルホン酸メチルとトルエンスルホン酸エチルの検出には質量数電荷比を $m/z = 91$ に設定し、標準溶液を測定して、得られたクロマトグラムを図4に示す。SIM測定では、バックグラウンドノイズが減少し、検出対象のピークのみが特異的に検出できるため、TICと比べてシャープなピークを取得することができた。よって本研究では、ベンゼンスルホン酸メチルとベンゼンスルホン酸エチルは $m/z = 77$ 、トルエンスルホン酸メチルとトルエンスルホン酸エチルは $m/z = 91$ と設定し、SIMにより測定を行った。

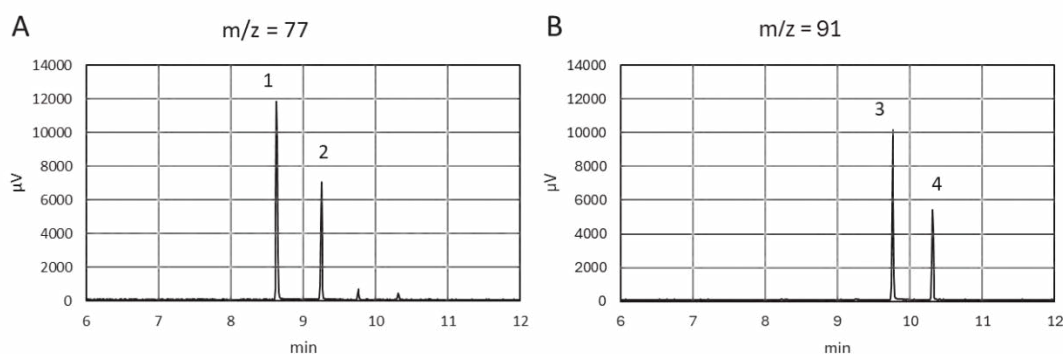


図4. 標準溶液のSIM, A. $m/z = 77$, B. $m/z = 91$, 1. ベンゼンスルホン酸メチル, 2. ベンゼンスルホン酸エチル, 3. トルエンスルホン酸メチル, 4. トルエンスルホン酸エチル

2 検量線, 併行精度の評価

本研究で測定を行う濃度域において十分な測定精度を有しているか、検量線を作成することで評価した。検量線用標準溶液は、「実験方法 3 標準溶液の調製」の記載の通り、5点とした。横軸を濃度、縦軸をピーク面積としてプロットし、直線近似により検量線を作成した(図5)。すべての不純物成分において、検量線は、原点付近を通り、決定係数が0.996以上となった。よって、本研究で測定を行う濃度域において十分な測定精度を有していることが分かった。

本測定の試験条件において、試料導入における再現性を確認するため、併行精度を算出した。標準溶液(各不純物成分の濃度がそれぞれ150 ng/mL)を6回測定した際のピーク面積、平均値、標準偏差、相対標準偏差を表3に記載した。相対標準偏差がベンゼンスルホン酸メチル1.085、ベンゼンスルホン酸エチル2.098、トルエンスルホン酸メチル1.230、トルエンスルホン酸エチル1.975となり、再現性が良好であることから、本測定における試料導入の操作において、問題がないことが分かった。

3 試料, 添加回収試験用試料の測定

「試料溶液, 添加回収試験用試料溶液の調製」の項目で調製した試料溶液をSIMにより測定した。クロマトグラムの縦軸を拡大したところ、各不純物成分のピークを確認することができた(図6)。これらのピーク面積は、図5の検量線の濃度範囲外であったため、外挿により値を算出したところ、ベンゼンスルホン酸メチルが1.5 ng/mL、ベンゼンスルホン酸エチルが1.6 ng/mL、トルエンスルホン酸メチルが1.4 ng/mL、トルエンスルホン酸エチルが1.1 ng/mLであった。測定結果はヘキサン10 mL中の濃度であることから、錠剤中(製剤重量0.2 g)に存在していた各不純物の濃度は、それぞれ、75 ng/g、80 ng/g、70 ng/g、55 ng/gであり、総量は280 ng/gであった。本研究で用いたアムロジピン錠における個々の不純物の摂取許容量は7.5 μ g/g、総量の摂取許容量は25 μ g/gであることから、不純物は許容上限量以下であることが分かった。

添加回収試験用試料溶液の測定を行った際のクロマトグラムを図7に示す。試料溶液及び添加回収試験用

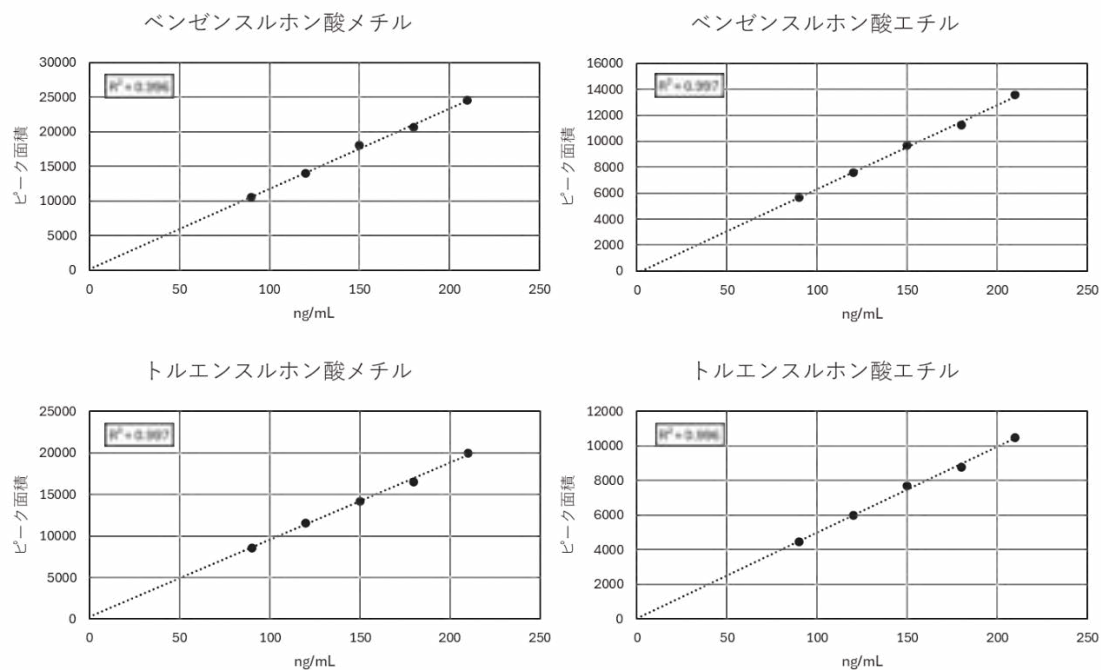


図 5. 各不純物の検量線，ベンゼンスルホン酸メチル及びベンゼンスルホン酸エチル（質量電荷比を $m/z = 77$ に設定して取得したピーク面積），トルエンスルホン酸メチル及びトルエンスルホン酸エチル（質量電荷比を $m/z = 91$ に設定して取得したピーク面積）

表 3. 各不純物における併行精度の検討結果

	ピーク面積						平均	標準 偏差	相対標 準偏差 (%)
	1	2	3	4	5	6			
ベンゼンスルホン酸メチル	19235	19187	18964	18885	18852	18699	18970	206	1.085
ベンゼンスルホン酸エチル	11830	11525	11364	11221	11299	11194	11406	239	2.098
トルエンスルホン酸メチル	16092	15889	15927	15731	15576	15641	15809	194	1.230
トルエンスルホン酸エチル	9176	9107	9013	8882	8812	8720	8952	177	1.975

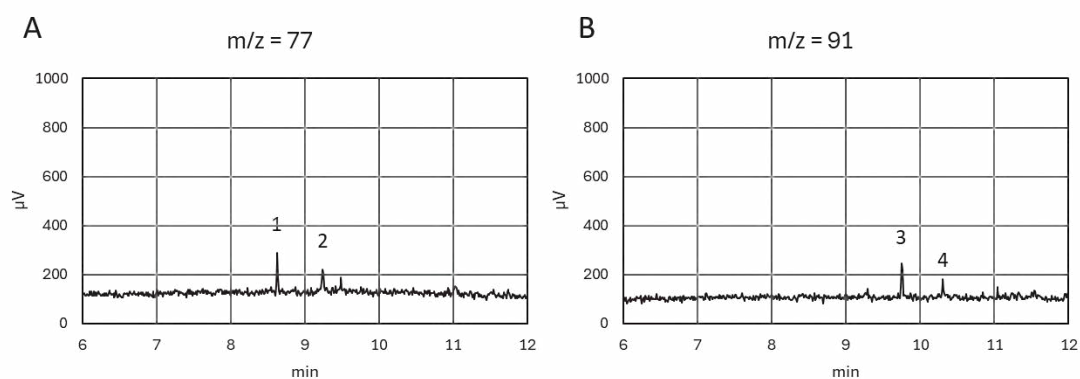


図 6. 試料溶液のクロマトグラム，A. $m/z = 77$ ，B. $m/z = 91$ ，1. ベンゼンスルホン酸メチル，2. ベンゼンスルホン酸エチル，3. トルエンスルホン酸メチル，4. トルエンスルホン酸エチル

試料の測定により得られたピーク面積から添加回収率を算出したところ、ベンゼンスルホン酸メチルが81%、ベンゼンスルホン酸エチルが93%、トルエンス

ルホン酸メチルが95%、トルエンスルホン酸エチルが101%となった。

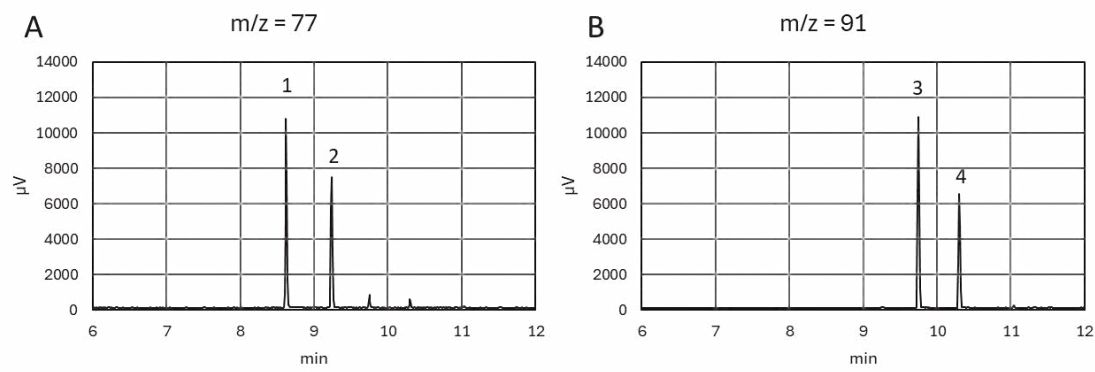


図 7. 添加回収試験用試料溶液のクロマトグラム, A. m/z = 77, B. m/z = 91, 1. ベンゼンスルホン酸メチル, 2. ベンゼンスルホン酸エチル, 3. トルエンスルホン酸メチル, 4. トルエンスルホン酸エチル

4 定量下限値の精査

品質管理において、不純物試験は許容上限量よりも低濃度域での管理閾値が求められることから、本試験法における定量下限値の精査を行った。各不純物がそれぞれ 10-40 ng/mL となるように標準溶液を調製し、

各ピークのシグナルノイズ比 (S/N 比) を算出したところ、表 4 の値となった。S/N 比による定量下限値は、一般的に 10 以上とされており、各不純物の S/N 比がすべて 10 以上となったのは、30 ng/mL 以上の時であった。

表 4. 各不純物の S/N 比

	ベンゼンスル ホン酸メチル	ベンゼンスル ホン酸エチル	トルエンスル ホン酸メチル	トルエンスル ホン酸エチル
製剤試料	4.7	2.3	4.1	2.2
標準溶液 10 ng/mL	6.0	6.8	4.8	3.3
標準溶液 20 ng/mL	13	13	8.0	6.9
標準溶液 30 ng/mL	17	17	14	13
標準溶液 40 ng/mL	25	21	17	16

各不純物の濃度がそれぞれ 30-70 ng/mL となるように標準溶液を調製し、検量線を作成したところ、決定係数はベンゼンスルホン酸メチル 0.997、ベンゼンスルホン酸エチル 0.992、トルエンスルホン酸メチル 0.984、トルエンスルホン酸エチル 0.966 となった。「実験方法 4 試料溶液、添加回収試験用試料溶液の調製」の項と同様に、各不純物の最終濃度がすべて 50 ng/mL (本製剤における不純物許容上限量の 1/3 の濃度) となるように添加回収試験用試料を調製した。添加回収率を算出したところ、ベンゼンスルホン酸メチルが 94%、ベンゼンスルホン酸エチルが 102%、トル

エンスルホン酸メチルが 97%、トルエンスルホン酸エチルが 106% となった。

考 察

本研究で適用した試験条件により、不純物成分であるベンゼンスルホン酸メチル、ベンゼンスルホン酸エチル、トルエンスルホン酸メチル、トルエンスルホン酸エチルにおいて、十分な分離度を示しており、本測定条件によって分析できることを確認した。また、TIC の測定で得られたマススペクトルをライブラリの

データと比較すると、最も一致率の高い化合物として測定対象成分の不純物が検索結果として得られたことから、イオン化条件が適切であることが分かった。ベンゼンスルホン酸メチルとベンゼンスルホン酸エチルは、ベンゼンの構造由来である $m/z = 77$ 、トルエンスルホン酸メチルとトルエンスルホン酸エチルは、トルエンの構造由来である $m/z = 91$ を SIM 測定にける質量電荷比と設定することで、シャープなピークを得ることができた。各不純物成分の濃度がそれぞれ 90–210 ng/mL となるように調製し、検量線を作成したところ、すべての不純物成分において、検量線は原点付近を通り、決定係数が 0.996 以上となっており、本製剤に許容上限量に不純物が含有されていた場合に、十分な測定精度を有していることが分かった。併行精度においても、相対標準偏差がそれぞれ、ベンゼンスルホン酸メチルが 1.085%、ベンゼンスルホン酸エチルが 2.098%、トルエンスルホン酸メチル 1.230%、トルエンスルホン酸エチル 1.975% となり、良好な再現性を示すことがわかった。製剤としてアムロジピン錠を用い、不純物の含有量を測定したところ、クロマトグラム上で小さなピークが検出できた。製剤中の不純物のピークは、表 4 の結果より、S/N 比が 10 未満であったことから、正確な定量値を算出ができなかったため、検量線の外挿により値を取得した。製剤中の濃度に換算すると、ベンゼンスルホン酸メチルが 75 ng/g、ベンゼンスルホン酸エチルが 80 ng/g、トルエンスルホン酸メチルが 70 ng/g、トルエンスルホン酸エチルが 55 ng/g であった。これは、製剤中の許容上限量をはるかに下回る結果であった。添加回収試験においては、ベンゼンスルホン酸メチルが 81%、ベンゼンスルホン酸エチルが 93%、トルエンスルホン酸メチルが 95% となり、良好な結果を得ることができた。さらに、不純物の許容上限濃度より、低濃度域における試験を実施し、本試験条件による定量下限値の精査を行ったところ、各不純物の濃度が 30 ng/mL 以上の場合に、すべて不純物の S/N 比が 10 以上となったため、30–70 ng/mL の濃度範囲で検量線および添加回収試験を実施した。検量線の決定係数は、「結果 2 検量線、併行精度の評価」の検討結果と比較して、わずかに低下する傾向が確認されたが、不純物許容量の 1/3 の濃度で実施した添加回収試験の結果では、良好な回収率を示した。HS-GC-MS は、医薬品中に存在する夾雑成分の影響を緩和する目的で採用されている⁵⁾。しかしながら、HS-GC-MS 用のオートサンプラーでは、約 250℃ までしか昇温できないことが多く、低沸点で気化できるように測定対象成分の誘導体化が必要であった。本研究では HS-GC-MS ではなく、試料の

直接注入型の GC-MS でも、夾雑成分による妨害を受けることなく、不純物の分析が可能であった。これは、試料を水中で溶解させ有機溶媒で抽出を行った際に、医薬品中の夾雑成分の大部分が、有機溶媒に抽出されなかったためであると考えられる。本検討では、1 日に製剤 1 錠を投与することを仮定して検証を行ったが、1 日に複数錠が投与される医薬品の場合、1 錠あたりの不純物の許容量は、本検討内容よりも少なくなる。そのため、GC-MS への試料注入量の増加や、スプリトレス注入の検討を行い、より低濃度で定量下限値が設定できる分析条件を確立することが重要である。

文 献

- 1) ICH-M7 : Assessment and control of DNA reactive (mutagenic) impurities in pharmaceuticals to limit potential carcinogenic risk, ICH harmonised guideline, (2023)
- 2) Maziarz, M., Wrona, M.: Coupling Mass Detection with UV to Improve Method Sensitivity for Esters of Benzenesulfonic Acid in Analysis of Genotoxic Impurities, Waters application note, 720005680OEN, 1-10, (2016)
- 3) Liu, D. Q., Sun, M., Kord, A. S.: Recent advances in trace analysis of pharmaceutical genotoxic impurities, J. Pharm. Biomed. Anal., 51(5), 999-1014, (2010)
- 4) Guo, T., Shi, Y., Zheng, L., Feng, F., Zheng, F., Liu, W.: Rapid and simultaneous determination of sulfonate ester genotoxic impurities in drug substance by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry: comparison of different ionization modes, J. Chromatogr. A., 1355, 73-79, (2014)
- 5) 小西太, 松井茜, 大神泰孝: 医薬品中 DNA 反応性 (変異原性) 不純物の定量, 住化分析センター技術広報誌 (SCAS NEWS), 42(2), 11-14, (2015)
- 6) Handique, D., Suryawanshi, N., Yeong, C., Lahey, C., Rane, S., Bhandarkar, D., Lohar, A., Jie-san, G., Qiang, L., Jun, F., Taochong, H., Lipeng, S., Nagata, J.: Analysis of Pharmaceuticals' Impurity - Regulations and Analysis for Carcinogenic Substances -, SHIMADZU Application Note, 62, 1-12, (2020)

日本薬局方ゴオウの定量法における L- アスコルビン酸の影響について

米田 哲也

Effect of L-Ascorbic Acid on the Assay of Oriental Bezoar in the Japanese Pharmacopoeia

Tetsuya YONEDA

要 旨

日本薬局方ゴオウの定量法でビリルビン含量を測定する際に、試料溶液に L-アスコルビン酸を加えるとビリルビンのピーク面積が大きくなることが確認された。ビリルビンのピーク面積が大きくなる原因が、ビリルビンの異性化にあると考え検討を行った。その結果、L-アスコルビン酸には、ビリルビンの異性化を抑える効果があることが分かった。しかしながら、ビリルビンの異性化と L-アスコルビン酸の添加によりビリルビンのピーク面積が大きくなることについては、関連性が認められなかった。また、ビリルビン溶液についても L-アスコルビン酸を加えると、試料溶液と同様にビリルビンのピーク面積が大きくなることが確認されたが、その原因については、今回の検討では明らかにすることはできなかった。次に、L-アスコルビン酸を加えてもビリルビンのピーク面積が変化しない分析条件がないか検討したが、最適な分析条件を見つけることはできなかった。L-アスコルビン酸の代わりとなり、ピーク面積に影響を与えずにビリルビンの安定性を確保する化合物がないか検討を行う必要があると考える。

Summary

In the analysis of bilirubin content using the assay for Oriental Bezoar described in the Japanese Pharmacopoeia, it was observed that adding L-ascorbic acid to the sample solution increased the peak area of bilirubin. This study investigates the hypothesis that the increase in the bilirubin peak area is due to bilirubin isomerization. It was found that L-ascorbic acid suppresses bilirubin isomerization. However, no correlation was found between bilirubin isomerization and the increase in bilirubin peak area observed upon the addition of L-ascorbic acid. Furthermore, it was confirmed that adding L-ascorbic acid to a bilirubin solution increased the peak area of bilirubin; however, the underlying mechanism responsible for this increase could not be elucidated. Next, it was examined whether there were any analytical conditions under which the peak area of bilirubin remained unchanged after adding L-ascorbic acid; however, no suitable conditions were identified. Further investigation is required to identify alternative compounds that can maintain bilirubin stability without affecting the bilirubin peak area, thereby enabling accurate determination of bilirubin content in the presence of stabilizing agents.

キーワード：日本薬局方、ゴオウ、ビリルビン、異性化、L-アスコルビン酸

Key words: the Japanese Pharmacopoeia, Oriental Bezoar, bilirubin, isomerization, L-ascorbic acid

緒 言

ゴオウとは、ウシの胆嚢や胆管にできる胆石を乾燥させた生薬であり、日本薬局方（日局）に収載されている。第十七改正日局の第二追補から、ゴオウの項に液体クロマトグラフィー法による定量法が収載され、ビリルビン 10.0 % 以上の含量規格が定められている。日局ゴオウの定量法に従って同じ試料から 3 回秤量し、ビリルビンの含量を測定したところ、1 回目は 16.2 %、2 回目は 10.9 %、3 回目は 23.1 % とすべての試料溶液でビリルビンの含量規格を満たしたが、含量に 2 倍以上の差がみられた。生薬由来成分であるため、秤量時に偏析が生じたと考えることもできるが、

この他に調製手順の誤りが原因として考えられることから調製手順の再検討を行った。定量法の手順を確認すると「本操作は光を避け、遮光した容器を用いて行い、試料溶液及び標準溶液は用時調製する。」¹⁾と規定されており、第十八改正日本薬局方技術情報 JPTI2021 においても、定量成分であるビリルビンは、光や熱で分解しやすい²⁾ことが書かれている。このことから、調製中や測定待機中に試料溶液のビリルビンが分解したことが原因で、ビリルビンの含量に差が生まれたのではないかと考えた。日局ゴオウの定量法では、安定性確保のためにビリルビン標準溶液に L-アスコルビ

ン酸を加えているが、試料溶液には、L-アスコルビン酸を加えていない。そこで、試料溶液へのL-アスコルビン酸添加が、ビリルビンのピーク面積などに与える影響について調査した。

方 法

1. 試薬及び機器

ビリルビン（規格含量：98.0+ % HPLC）、L-アスコルビン酸（特級）、酢酸（特級）、ギ酸（LC/MS用）は、富士フイルム和光純薬社製を使用した。ジメチルスルホキシド（特級）、HPLC用メタノール、HPLC用アセトニトリルは、関東化学社製を使用した。水は、Merck Millipore社製のMilli-Qシステムで作製した超純水を使用した。

分析装置は、ACQUITY UPLC H-Class PLUS システム（Waters社製）を使用した。液体クロマトグラフィーの検出器は、フォトダイオードアレイ（PDA）を用いた。

カラムは、東ソー社製TSKgel ODS-80Ts（4.6 × 150 mm, 5 μm）、Waters社製XBridge BEH C18（4.6 × 150 mm, 5 μm）、ワイエムシイ社製YMC-Pack ODS-A（4.6 × 150 mm, 5 μm）、ワイエムシイ社製YMC Triart C18（4.6 × 150 mm, 5 μm）を使用した。

2. 実験材料

日局適合品ゴオウ（オーストラリア産、最優品、販売元：松井薬品株式会社）を用いた。

3. 実験方法

3-1. 試料溶液及びビリルビン溶液の調製法

試料溶液（L-アスコルビン酸無）：ゴオウの粉末約2 mgを精密に量り、ジメチルスルホキシド／酢酸混液（9：1）2 mLを加えて60℃で20分間加温した後、ジメチルスルホキシド／酢酸混液（9：1）を加えて正確に10 mLとした。この液5 mLを正確に量り、移動相を加えて正確に50 mLとした後、メンブランフィルターで試料溶液をろ過した。試料溶液10 μLを正確にとり、液体クロマトグラフィーにより測定を行った。

試料溶液（L-アスコルビン酸有）：ゴオウの粉末約2 mgを精密に量り、L-アスコルビン酸約70 mgを加えた後、ジメチルスルホキシド／酢酸混液（9：1）2 mLを加えて60℃で20分間加温した後、ジメチルスルホキシド／酢酸混液（9：1）を加えて正確に10 mLとした。この液5 mLを正確に量り、移動相を加えて正確に50 mLとした後、メンブランフィルターで試

料溶液をろ過した。試料溶液10 μLを正確にとり、液体クロマトグラフィーにより測定を行った。

ビリルビン溶液（L-アスコルビン酸無）：ビリルビン約10 mgを精密に量り、ジメチルスルホキシド／酢酸混液（9：1）に溶かし、正確に100 mLとした。この液5 mLを正確に量り、移動相を加えて正確に50 mLとした。ビリルビン溶液10 μLを正確にとり、液体クロマトグラフィーにより測定を行った。

ビリルビン溶液（L-アスコルビン酸有）：ビリルビン約10 mgを精密に量り、L-アスコルビン酸約350 mgを加えた後、ジメチルスルホキシド／酢酸混液（9：1）に溶かし、正確に100 mLとした。この液5 mLを正確に量り、移動相を加えて正確に50 mLとした。ビリルビン溶液10 μLを正確にとり、液体クロマトグラフィーにより測定を行った。

3-2. 液体クロマトグラフィー分析条件

<日局ゴオウの分析条件¹⁾>

検出器：フォトダイオードアレイ（測定波長：200～700 nm）

カラム：内径4.6 mm、長さ15 cmのステンレス管に5 μmの液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲルを充填する。

カラム温度：30℃付近の一定温度

移動相：酢酸を100倍希釈した溶液とアセトニトリルを1：19の割合で混和し調製した。

流量：0.87 mL/min（ビリルビンの保持時間が約10分）

<ビリルビンの異性体が分離する分析条件^{3, 4)}>

検出器：フォトダイオードアレイ（測定波長：200～700 nm）

カラム：内径4.6 mm、長さ15 cmのステンレス管に5 μmの液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲルを充填する。

カラム温度：30℃付近の一定温度

移動相：酢酸を50倍希釈した溶液とメタノールを1：9の割合で混和し調製した。

流量：1 mL/min（ビリルビンの保持時間が約18分）

結果及び考察

1. ビリルビンの分解物の探索

L-アスコルビン酸を加えた試料溶液及び加えていない試料溶液を調製し、日局ゴオウの定量法の条件で分析を行った（表1）。その結果、L-アスコルビン酸を加えた試料溶液は、L-アスコルビン酸を加えていない試料溶液よりビリルビンのピーク面積が約1.4倍大きく

なったことから、L-アスコルビン酸を加えていない試料溶液では、ビリルビンが分解しているのではないかと考えた。そこで、L-アスコルビン酸の有無の試料溶液について、PDA 検出器を用いて測定し 200～700 nm の波長の中に分解物らしき化合物のピークが検出され

ないか確認を行った。しかしながら、今回の測定では、L-アスコルビン酸を加えていない試料溶液に特異的なピークは検出されず、UV 吸収がある分解物の生成は認められなかった（図 1）。

表 1. L-アスコルビン酸（AA）有無の試料溶液におけるビリルビンのピーク面積

カラム	AA有	AA無	AA有/AA無
TSKgel ODS-80Ts	395301	250818	1.58
	394360	295333	1.34
	455423	337940	1.35

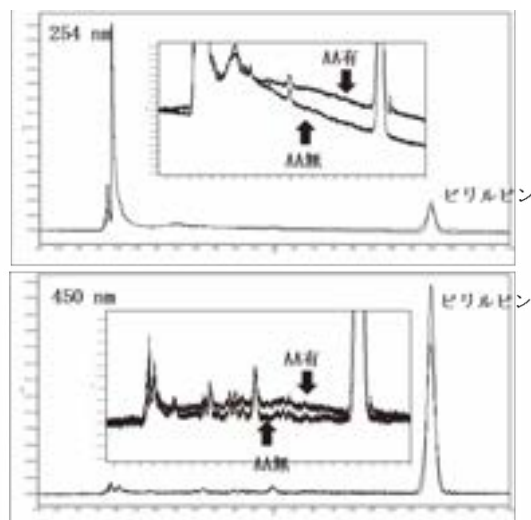


図 1. L-アスコルビン酸（AA）有無の試料溶液のクロマト重ね合わせ及びベースラインの拡大図、代表例として2つの波長（上：短波長側 254 nm、下：測定波長 450 nm）を示す

2. ビリルビンの異性化

PDA 検出器を用いた検討からは、ビリルビンの分解物らしき化合物のピークを確認することができなかったことから、分解以外の要因でビリルビンのピーク面積が変化する可能性がないか検討を行った。ビリルビンは、異性化しやすいことが知られている⁵⁾。そのため、日局ゴオウの定量法においては、正確なビリルビン濃度を測定するために、異性体を分離せずに単一のピークとして検出し、異性体も含めたビリルビンの量で測定している^{3, 4)}。そこで、L-アスコルビン酸の有無の試料溶液では、ビリルビン異性体の生成やそ

の存在比率が異なるために、ビリルビンのピーク面積が異なるのではないかと考えた。そこで、異性体が分離する分析条件でL-アスコルビン酸の有無の試料溶液を分析し、異性体の割合及び異性体を含めたビリルビンのピーク面積に変化がないか調べた。まず、L-アスコルビン酸を加えた試料溶液を、室温（約 20 ℃）に 22 時間置いて分析を行った。その結果、異性体のピークは検出されなかった（図 2）。次に、L-アスコルビン酸を加えていない試料溶液について検討を行った。試料溶液の調製直後（0 時間）に分析を行うと、異性体のピークは確認されなかった。しかしながら、

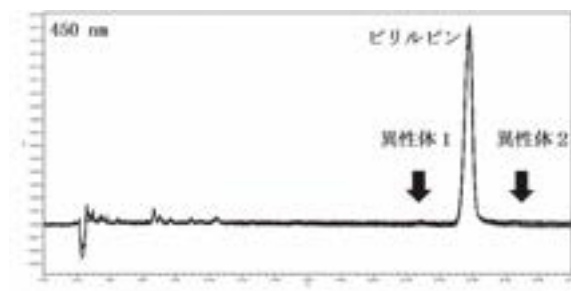


図 2. L-アスコルビン酸有の試料溶液（0時間及び22時間後）のクロマト重ね合わせ

この試料溶液を室温（約 20 ℃）に 22 時間置き、再び測定すると異性体のピークが確認された（図 3）。このことから、L-アスコルビン酸を加えていない試料溶液では、異性化が起こったことが分かった。ビリルビンの異性化について詳細なデータを取得するため、室温に置いた試料溶液を 1 時間おきに分析した結果、経時的に異性化が進行し、ビリルビン異性体 1 とビリルビン異性体 2 が、同じ割合で生成することが分かった（図 4）。さらに、異性化が起こった試料溶液に L-アスコルビン酸を加えると、異性体の割合や異性体を含めたビリルビンのピーク面積がどうなるのか疑問に

思い、室温（約 20 ℃）に 22 時間置いた試料溶液に、L-アスコルビン酸の濃度が 350 $\mu\text{g/mL}$ となるように L-アスコルビン酸を加えて溶解した後、測定した。すると、異性体の存在比率には変化がなかったが、調製直後に測定したビリルビンのピーク面積よりも約 1.1 倍大きくなったことが確認された（表 2）。次に、ビリルビン溶液についても、同様の結果が得られるのかどうか確認するため、L-アスコルビン酸を加えた溶液と加えていない溶液を日局の条件で分析し、それぞれのビリルビンのピーク面積を比較した。その結果、ビリルビン溶液においても、L-アスコルビン酸を加えた

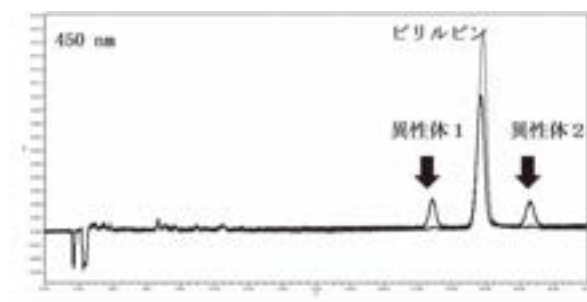


図 3. L-アスコルビン酸無の試料溶液（0時間及び22時間後）のクロマト重ね合わせ

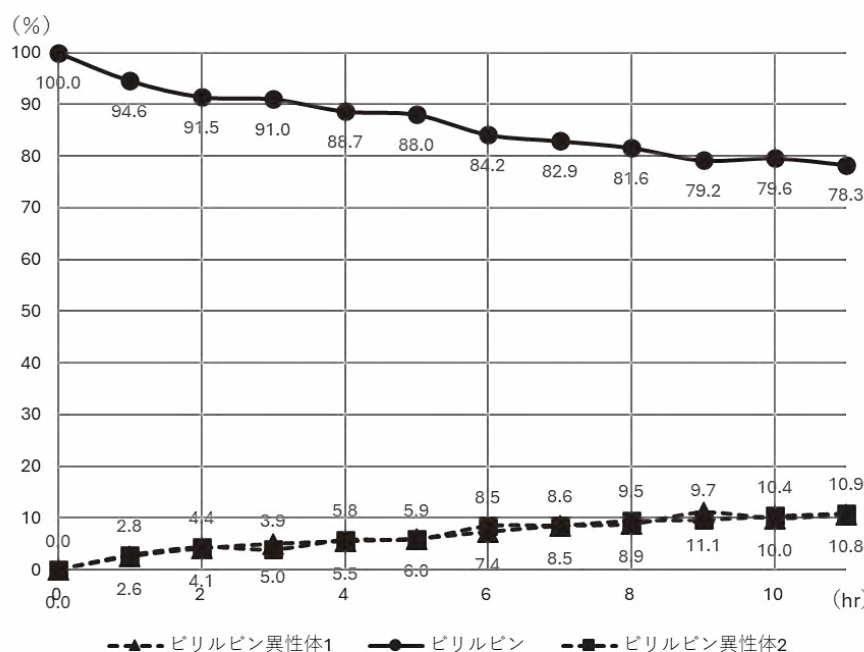


図 4. L-アスコルビン酸無の試料溶液中のビリルビン異性化の推移（波長450 nm）

表 2. 異性体分離する条件で分析した、L-アスコルビン酸（AA）無の試料溶液のビリルビンのピーク面積

試料溶液（AA無）	ビリルビン異性体1 （a）	ビリルビン （b）	ビリルビン異性体2 （c）	Total ビリルビン （a+b+c）
調整後0時間	0	492793	0	492793
調整後22時間後	61535	322002	64501	448038
調整後22時間後の 試料溶液にAAを添加後	76903	359760	74145	510808

溶液の方が、ピーク面積が約1.2倍大きかった（表3）。また、L-アスコルビン酸を加えていないビリルビン溶液は、試料溶液と比べ安定性が悪く、ビリルビンのピーク面積の減少が顕著であったため、L-アスコルビン酸を加えないと標準溶液として用いることができなかった。L-アスコルビン酸は、試料溶液中のビリルビンの異性化を抑制する効果があることが明らかになった。しかしながら、ビリルビンの異性化とL-アスコルビン酸の添加の有無でビリルビンのピーク面積が異なることは、関連がないと考えられる。試料溶液及びビリルビン溶液にL-アスコルビン酸を加えると、添加前よりもビリルビンのピーク面積が大きくなることは確認できたが、その原因を明らかにすることはできなかった。

3. L-アスコルビン酸の影響が少ない分析条件の検討

試料溶液及びビリルビン溶液にL-アスコルビン酸を加えるとL-アスコルビン酸を加える前よりもビリルビンのピーク面積が大きくなることは明らかになったが、L-アスコルビン酸を加えた値と加えない値のどちらがビリルビンのピーク面積の真値であるか判断ができないため、L-アスコルビン酸を加えてもビリルビ

ンのピーク面積が変わらない分析条件がないか、試料溶液を用いて検討を行った。日局の分析条件からカラムのみを変更し測定を行い、カラムの違いによりL-アスコルビン酸の有無で試料溶液のビリルビンのピーク面積にどのくらい差が生まれるのか検討を行った（表4）。カラムによって、L-アスコルビン酸の有無でビリルビンのピーク面積の差が異なることが分かった。今回検討したカラムの中では、「YMC Triart C18」がL-アスコルビン酸の有無でピーク面積の差が一番小さかった。次に、移動相として調製する酸を変えるとビリルビンのピーク面積が変化するか確認するため、移動相を「アセトニトリル/0.1 % ぎ酸水（19：1）」へ変更し分析を行った（表5）。この分析条件では、「TSKgel ODS-80Ts」がL-アスコルビン酸の有無でピーク面積の差が一番小さかった。カラムや移動相を変更するとビリルビンのピーク面積が変化することから、ビリルビンのカラム吸着を疑った。そこで、L-アスコルビン酸の有無の試料溶液について、日局ゴオウの分析条件で注入量を10 μ L、5 μ L、1 μ Lと減らして測定を行い、ビリルビンのピーク面積に直線性があるか検討を行った（図5）。L-アスコルビン酸を加えた試料溶液では良好な直線性がみられたのに対し

表 3. L-アスコルビン酸（AA）有無におけるビリルビン溶液のピーク面積

カラム	AA有	AA無	AA有/AA無
TSKgel ODS-80Ts	619920	508388	1.22
	565953	482356	1.17

表 4. 各カラムにおけるビリルビンのピーク面積

カラム	AA有	AA無	AA有/AA無
TSKgel ODS-80Ts	373537	250666	1.49
	382941	254255	1.51
Xbridge BEH C18	582240	528775	1.1
	578680	532500	1.09
YMC-PackODS-A	369249	256718	1.44
	372392	278592	1.35
YMC Triart C18	355853	360091	0.99
	364526	352468	1.03

表 5. 移動相を「アセトニトリル/0.1 % ぎ酸水（19：1）」へ変更し、分析を行ったビリルビンのピーク面積

カラム	AA有	AA無	AA有/AA無
TSKgel ODS-80Ts	344493	337802	1.02
	349026	351282	0.99
Xbridge BEH C18	486048	434056	1.12
	508777	435768	1.17
YMC-PackODS-A	334494	307004	1.09
	341021	324038	1.05
YMC Triart C18	331531	316847	1.05
	333885	331706	1.01

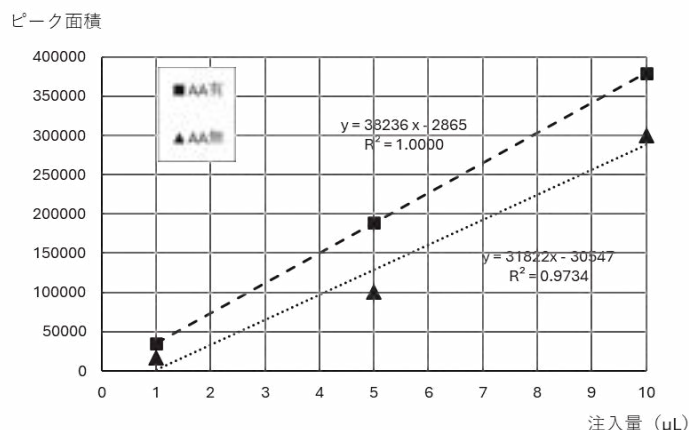


図 5. L-アスコルビン酸 (AA) 有無試料溶液における注入量とビリルビンのピーク面積の直線性 (使用カラム: TSKgel ODS-80Ts)

て、L-アスコルビン酸を加えていない試料溶液では、わずかではあるが直線性の逸脱がみられた。このことから、カラム吸着の可能性が示唆された。しかしながら、ビリルビン溶液では、L-アスコルビン酸を加えないとビリルビンの安定性が悪く、直線性がみられない原因が、ビリルビンの分解と吸着どちらにあるのか判断ができなかったため、カラム吸着があると結論づけることはできなかった。その後も条件検討を行ったが、L-アスコルビン酸の有無で、ビリルビンのピーク面積が変化しない最適な分析条件を見つけることはできなかった。L-アスコルビン酸を添加していないビリルビン溶液は安定性が極めて低いことから、L-アスコルビン酸はビリルビンの安定化に寄与している可能性が高い。一方で、L-アスコルビン酸の添加はビリルビンのピーク面積にも影響を及ぼす結果が得られたため、現状では本定量法がビリルビンを適切に定量できているかの判断が困難と考えられた。より正確にゴオウ中のビリルビンを定量するためには、L-アスコルビン酸の代わりとなり、ピーク面積に影響を与えずにビリルビンの安定性を向上させる化合物がないか検討を行う必要があると考える。

謝 辞

ゴオウの定量法についてご助言いただきました、国立医薬品食品衛生研究所生薬部第一室長 政田さやか博士に心より感謝いたします。

文 献

- 1) 厚生労働省：第十八改正日本薬局方，p. 1927～1928，独立行政法人 医薬品医療機器総合機構，

東京 (2021)

- 2) 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団 (編)，第十八改正 日本薬局方 技術情報 JPTI2021, p. 1294～1295，じほう，東京 (2021)
- 3) 長谷川真照，山口茂治，大場幸次，岡坂衛，嶋田康男：クリーンアナリシスを指向したゴオウ中のビリルビン定量法，生薬学雑誌，64 (2)，90-95 (2010)
- 4) 岡坂 衛，嶋田康男，市瀬浩志，袴塚高志：有害試薬を用いない ODS カラムを使用した HPLC によるゴオウ中のビリルビン定量法 2，生薬学雑誌，72 (1)，39-44 (2018)
- 5) A F McDonagh, F Assisi: The ready isomerization of bilirubin IX- in aqueous solution., Biochem., 129, 797-800 (1972)

V 資 料

「令和 7 年度分析データ信頼性確保事業」事業報告

External quality control for laboratories of pharmaceutical companies in 2025

小笠原 勝, 米田 哲也, 高山 信幸, 柚木 芳

Masaru OGASAWARA, Tetsuya YONEDA, Nobuyuki TAKAYAMA, Kaori YUNOKI

2021 年に県内医薬品メーカーによる GMP 違反が相次いで発覚して以降、本県医薬品産業への信頼が大きく損なわれていたが、徐々に回復の兆しが見えてきた。本県における 2024 年の医薬品生産金額は前年比 1.8% 増の 6334 億円となり、2 年連続で増加した。都道府県別の順位は前年から一つ下がり 5 位となったものの、この回復基調を継続させるためには、県内薬業界をあげて今まで以上に品質管理技術力の強化を進める必要がある。

本事業は、平成 21 年度より一般社団法人富山県薬業連合会と共同で、県内製薬企業の品質管理部門を対象に外部精度管理を実施し、試験検査の技術力の強化及び県内医薬品産業の更なる活性化を目的として取り組んでいる¹⁻¹³⁾。具体的には、参加企業に同一の試料を配布し、同一の試験方法で分析を実施していただき、その結果をとりまとめて解析する。この結果を各社にフィードバックするとともに、期待する結果が得られなかった参加企業に対しては原因調査及び改善支援を行う。これにより、県内製薬企業の試験検査技術力の向上及びその水準の維持に寄与するものである。令和 7 年度は、要望の多い試験項目を中心に、定量 (HPLC 法)、pH 測定、確認試験 (TLC 法)、確認 (赤外吸収スペクトル測定法、KBr 錠剤法)、定量 (UV 法) について実施し、結果解析、原因調査、及び改善支援を行ったので、その概要について報告する。

1. 実施方法

(1) 試験項目及び試験方法

試験項目は、シロスタゾールの定量 (HPLC 法)、ベタミプロンの pH 測定、日局シャゼンシ及び日局 TLC 用シャゼンシの確認試験 (TLC 法)、イブプロフェンの確認 (IR 法、KBr 錠剤法)、グリチルリチン酸の定量 (UV 法)、天秤性能評価とした (表 1)。定量 (UV 法) は医薬品添加物規格に準じた試験方法とし、それ以外は日本薬局方に準じた試験方法とした。

表 1 試験項目及び参加施設数等について

	試験項目	対象品目	主な使用機器	参加企業数
製剤 試験	定量 (HPLC)	試料 A 日局シロスタゾール錠 (シロスタゾール錠 100 mg 「サワイ」)	高速液体クロマト グラフ, 乾燥機	31
原薬 試験	pH 測定	試料 B (ベタミプロン)	pH 計	39
	確認 (TLC)	試料 C1、C2 日局シャゼンシ (C1) 日局 TLC 用シャゼンシ (C2)	展開槽, 噴霧器, 乾燥機	34
	確認 (IR)	試料 D (イブプロフェン)	フーリエ変換赤外分光光度 計, 錠剤成型器, 減圧乾燥機	31
	定量 (UV)	試料 E (グリチルリチン酸)	分光光度計	35

(2) スケジュール

参加者の負担軽減の観点から結果報告会はオンライン形式で実施した。実施方法の説明資料等については、試験手順説明資料は電子メールにより、また試験試料は宅配便により参加者宛に配布した。配布時期は昨年度同様に例年よりも1か月程度早くし（令和7年10月6日発送）、各社ができるだけ試験に参加し易くなるよう努めた。当センターへの試験結果報告期限は令和7年12月25日とした。報告内容を取りまとめて下記(3)の方法により評価し、その評価結果に応じて原因調査、改善支援、及び再試験依頼等を実施した。結果報告会は令和8年3月18日に実施し、併せて外部講師による講習会（メルク（株）、「薄層クロマトグラフィー（TLC）の基礎とデジタル解析技術」）を実施した。

(3) 評価方法

危険率1%でGrubbsの方法により検定を行い、異常値と判断されたデータを棄却した後、ISO/IEC Guide 43（JIS Q 0043）に従い、ロバスト法の第1四分位数Q1、第3四分位数Q3及びメジアンQ2から次のようにZスコアを求めて判定した。

$$Z = (Xi - Q2) / \{(Q3 - Q1) \times 0.7413\}$$

| Z | ≤ 2 満足
2 < | Z | ≤ 3 疑わしい
| Z | > 3 不満足

※Xi：各参加施設の報告値

(4) 評価結果に基づく対応

「不満足」及び「疑わしい」と判定された施設に対しては、原因調査（聞き取り調査等）及び改善支援を実施するとともに、再試験を依頼した。さらに、再試験を実施した施設から再試験結果の報告を受け、初回試験のQ1、Q2及びQ3を用いてZスコアを算出し、再度評価した。

2. 結果及び考察

(1) 日局シロスタゾール錠の定量試験（HPLC法）

参加31施設のうち、3施設が「疑わしい」と判定された。「不満足」と判定された施設はなかった。「疑わしい」と判定された3施設のうち1施設（以下、①）は、全体の値と比較して含量値がやや高値であった。また、「疑わしい」と判定された別の2施設（以下、②及び③）は、全体の値と比較してやや低値であった（図1～3）。

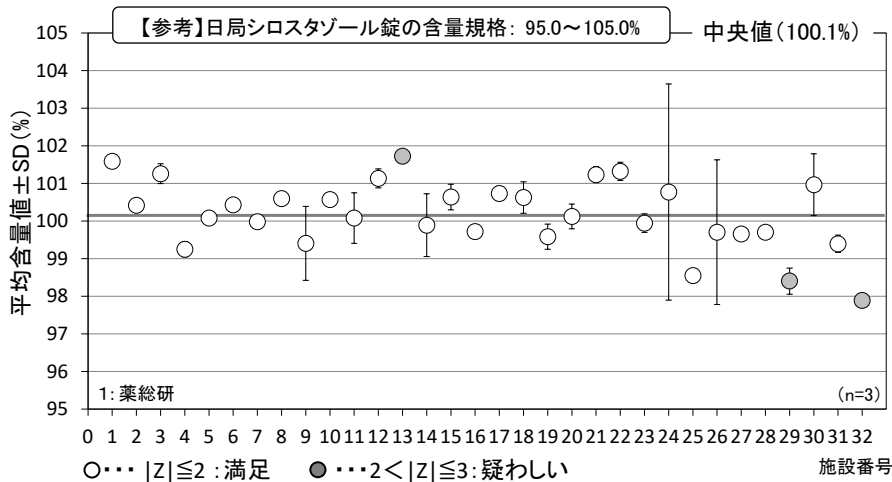


図1 日局シロスタゾール錠の定量試験（HPLC法）の報告値

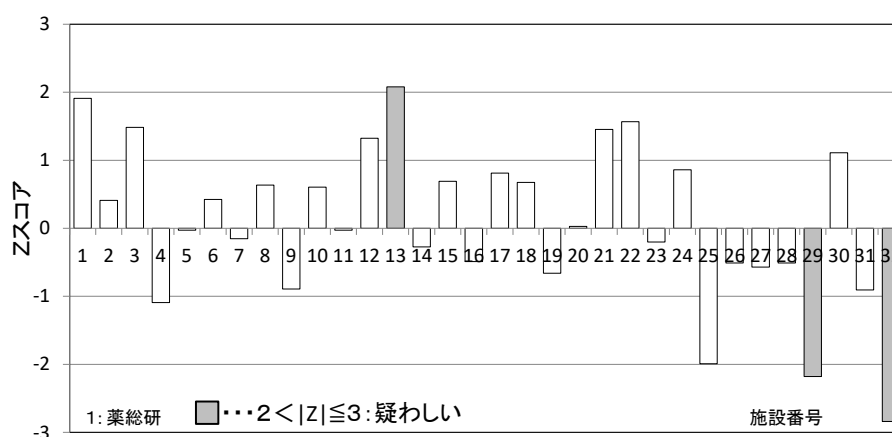


図2 日局シロスタゾール錠の定量試験（HPLC法）のZスコア

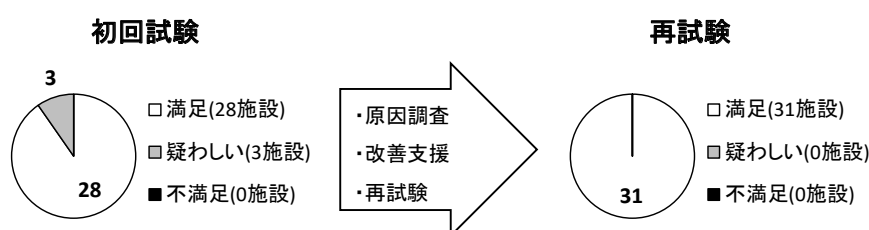


図3 日局シロスタゾール錠の定量試験（HPLC法）の評価結果

原因調査の結果、①の施設においては、標準溶液の調製にミスがあったと考えられた。具体的には、定量用標準物質の乾燥後の吸湿や秤量操作における問題が考えられた。再試験ではとくに定量用標準物質の乾燥後の吸湿防止に留意して実施され、「満足」と判定される結果が得られた。②の施設では、内標準溶液の添加操作に問題があったと考えられたが、試験者からは錠剤の粉碎方法、試料の抽出操作、フィルターろ過操作に原因があると考えたとの回答があった。最終的には、錠剤の粉碎方法を「粉碎机+磁製乳鉢」から「磁製乳鉢のみ」へと変更し再試験を実施されたところ、「満足」と判定される結果が得られた。③の施設では、試料溶液の調製、とくに試料の抽出操作に問題があったと考えられた。再試験では錠剤の粉碎操作及び抽出操作に留意して実施され、「満足」と判定される結果が得られた。その他として、 $n=3$ の標準偏差がやや大きい施設が2施設認められた。この点については、参加者全体での結果報告会において試験操作の振り返りをさせていただきようお願いした。

今回の試験は、試験品が溶け切らない試料であったため、抽出操作において定量成分が十分に抽出されているか懸念するコメントをいただいた。実際、当センターの検討では、錠剤を粉末化する粉碎操作が不十分な場合に含量値が低下すること、粉碎机を用いても粉末化が不十分となる場合があることを、結果報告会にてデータを示し情報共有した。

(2) ベタミプロンのpH測定試験

参加39施設のすべてが「満足」と判定された。疑問点や問題点などに関するコメントもなかった（図4）。

(3) 日局シャゼンシ及び日局TLC用シャゼンシの確認試験（TLC法）

毎年度参加者を対象に実施しているアンケート調査において、確認試験（TLC法）に対する実施希望が高かったことから、約10年ぶりに実施した。評価指標は、 R_f 値0.25付近のスポットの R_f 値とした。参加34施設のうち、4施設が「不満足」と判定された。「不満足」と判定された4施設のうち3施設（以下、①、②、及び③）は、全体の値と比較して評価指標値（ R_f 値）が高値であった。また、「不満足」と判定された残りの1施設（以下、④）は、全体の値と比較して低値であった（図5～7）。

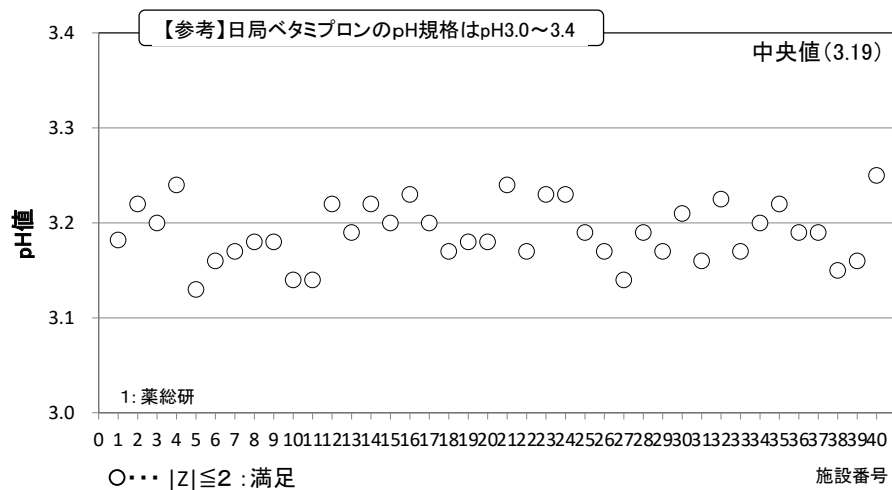


図4 ベタミプロンのpH測定試験の報告値

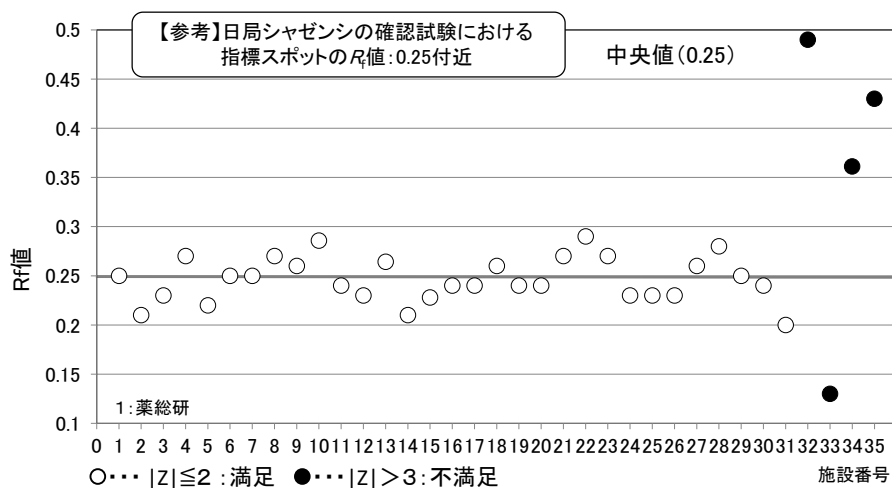


図5 日局シャゼンシの確認試験（TLC法）の報告値

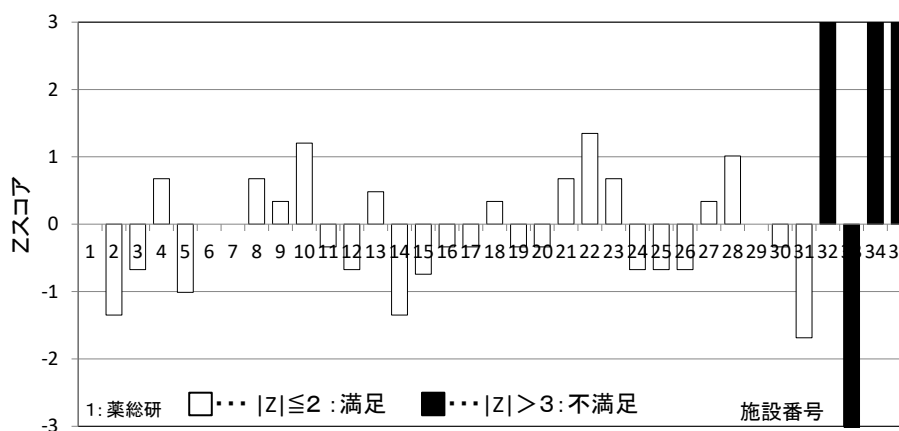


図6 日局シャゼンシの確認試験（TLC法）のZスコア

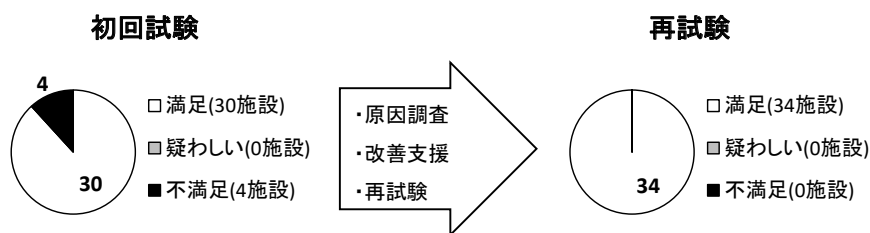


図7 日局シャゼンシの確認試験（TLC 法）の評価結果

原因調査の結果、①の施設においては展開溶媒の調製に問題があったと考えられた。とくにメタノールと酢酸エチルの2種類の溶媒の混合比率に問題があると推察された。この点に留意して再試験を実施されたところ、「満足」と判定される結果が得られた。②及び③の施設においても、展開溶媒の調製に問題があったと考えられた。とくにメタノールあるいは酢酸エチルのどちらか1種類の溶媒の混合比率に問題があると推察された。この点に留意して再試験を実施されたところ、いずれも「満足」と判定される結果が得られた。ところが、その後、②の施設については試験の際にろ紙を用いていなかったことが判明した。そこで、ろ紙の有無の影響について検討したところ、ろ紙を用いていなかったことも R_f 値が高値となった原因の一つであると推察された。この点は参加者全体の結果報告会にてデータを示し情報共有した。④の施設でも、展開溶媒の調製に問題があったと考えられた。とくに評価指標スポットの分離が不十分かつ不明瞭であったことから、展開溶媒のうち酢酸（100）の混合比率に問題があった可能性が推察された。この点に留意して再試験を実施されたところ、「満足」と判定される結果が得られた。

今回の試験では、「満足」と判定されたが、TLC 展開後の各スポットがかなり滲んでいるケースが2件認められた。この点についてセミナー講師にコメントを求め、呈色試薬の過剰噴霧などが原因と考えられることを参加者全体で情報共有した。

(4) イブプロフェンの確認試験（IR, KBr錠剤法）

これまでと同様に、試料の IR スペクトルのうち特徴的な2カ所の吸光度比を評価指標値として、報告されたデータを統計処理した。その結果、参加31施設のうち、4施設が「疑わしい」と判定された。ところが、IR スペクトルの形状について確認したところ、「疑わしい」と判定された4施設のうち3施設において明らかな問題は確認されなかった。このことから、当センターで事前に把握できなかった現象が起きたものと考え、評価指標値による判定は行わず、スペクトル形状に基づいた情報共有とすることとした。そこで改めて各施設から報告された IR スペクトルの形状を確認したところ、スペクトル形状が全体に低い、左下がりが、及び、左上がりが各1施設認められた。各々について日本分光株式会社にコメントを求めたところ、いずれも KBr 錠剤の作製不良が原因であり、詳しくはそれぞれバックグラウンド錠剤及び試料錠剤の曇り、試料錠剤の曇り、及び、バックグラウンド錠剤の曇りであることを結果報告会にて参加者全体で共有した。その他、IR スペクトルの主な吸収帯の透過率が5～80%の範囲に収まっていないケース（1施設）、波数 2400 cm^{-1} 付近に二酸化炭素の吸収ピークが認められたケース（2施設）について、対応策を参加者間で共有した。

(5) グリチルリチン酸の定量試験（UV法）

参加35施設のうち、1施設（以下、①）が「疑わしい」と判定された。「不満足」と判定された施設はなかった。「疑わしい」と判定された①の施設では、全体の値と比較して含量値がやや低値であった。原因調査の結果、初回試験時のゼロ点合わせの際に問題があったと考えられた。この点に留意して再試験を実施されたところ、「満足」と判定される結果が得られた（図8～10）。

(6) 天秤性能評価

第十八改正日本薬局方第二追補（令和6年6月28日厚生労働省告示第238号）の「9.62 計量器・用器」において、はかり（天秤）及び分銅に関する要件が改正され、天秤については繰返し性（併行精度）及び正確さ（真度）の確認が規定された。そこで、各施設において日局に準じた試験に使用している天秤（化学はかり

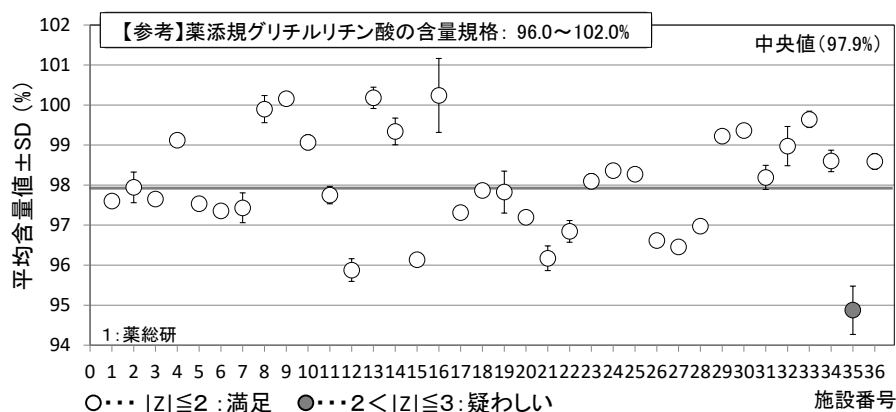


図8 グリチルリチン酸（UV 法）の報告値

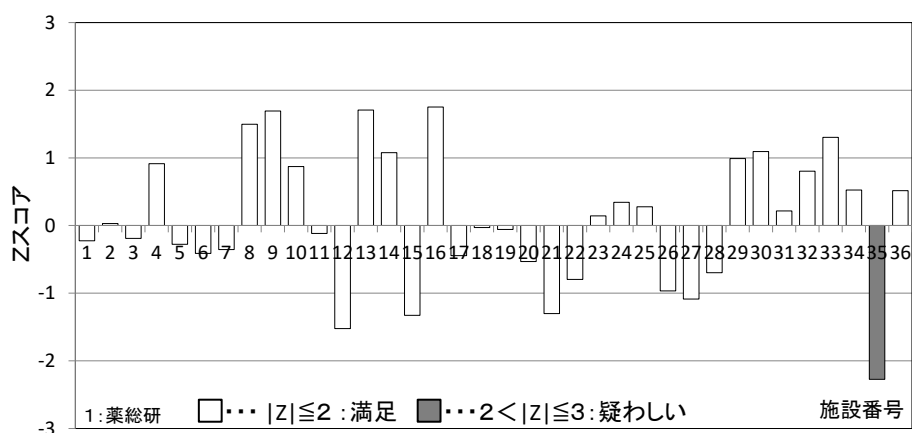


図9 グリチルリチン酸（UV 法）のZスコア

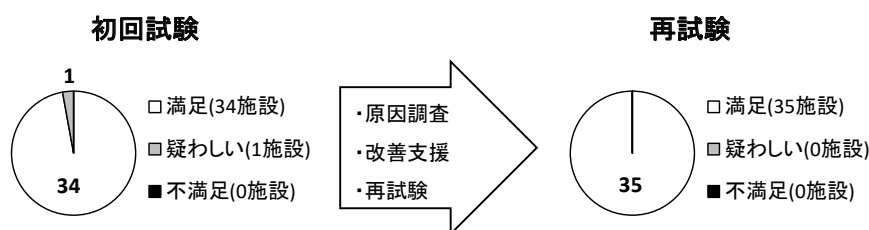


図10 グリチルリチン酸（UV 法）の評価結果

（天秤），セミマイクロ化学はかり（天秤），マイクロ化学はかり（天秤）を対象に，繰返し性と正確さに関する評価を行い，その結果を共有することを主な目的として実施した．「9.62 計量器・用器」に従い，繰返し性では最小計量値の推定値を求め，正確さでは表示値と分銅の質量値から誤差を求め，それぞれ天秤の性能を比較評価した．36 施設から性能評価に関するデータを提供いただき，各はかり（天秤）の最小計量値の推定値および誤差について情報共有した．その他，繰返し性および正確さの確認頻度，安全係数の値，日常点検の点検項目等についても参加者全体で情報共有した．

3. まとめ

今年度実施した5項目の試験の結果について統計解析を実施したところ，全体として「不満足」と判定されなかった施設の割合は97%（のべ139施設中135施設）となり，前年度の96%（のべ189施設中181施設）と

ほぼ同じ値となった。しかし、不満足と判定された施設は確認試験（TLC 法）に集中したことから、確認試験（TLC 法）については今後も継続して実施し、分析技術の維持向上を図る必要があると考えられた。

今回の確認試験（TLC 法）では、 R_f 値を評価指標とした。そのため、指標スポットの位置が標準物質と試料溶液との間で同じ位置に確認された場合であっても、報告された R_f 値にもとづき算出した Z スコアが 3 を超える場合には不満足と判定した。報告された R_f 値の約 88%（30/34 施設）は 0.25 付近（0.2～0.3）に集中しており、日局シャゼンシの確認試験に規定された値ともほぼ一致していた。このことは、試験条件を適切に整えることで、 R_f 値を規定された値付近に制御できることを示している。不満足となった主な原因は、展開溶媒の調製ミスが最も多かった。適切な調製器具の使用など、基本操作に留意することが重要であることを参加者全体で共有した。また、日本薬局方技術情報 2021 に掲載されている日局 TLC 用シャゼンシの TLC 実施例に類似した結果を報告された 4 施設について、試験実施時の留意点などに関する情報を提供いただき、参加者全体で共有できたことは有用であった。

本事業では、各施設で発生したミスの事例や対処法の考え方を参加者間で共有することが、個々の技術力の向上につながると考え、取り組んでいる。事業終了後に実施した参加者へのアンケートでは、「再試験を実施した参加施設の是正点やその考え方が大変参考になった」とのコメントが毎年多数寄せられている。普段の業務では気付きにくい問題点について、情報共有を通じて課題を明確化できたものとする。本事業にご協力いただいたことに改めて感謝を申し上げるとともに、今後も県内製薬企業の試験技術力の維持・向上に寄与し、県内医薬品産業の更なる発展に繋がるよう本事業に取り組んでいく。

文 献

- 1) 寺崎さち子, 横田洋一, 出町幸男, 製薬企業の品質管理部門を対象とした外部精度管理, 富山県薬事研究所年報, 39, 69-76 (2012)
- 2) 竹林憲司, 横田洋一, 大戸幹也, 「平成 25 年度分析データ信頼性確保事業」事業報告, 富山県薬事研究所年報, 41, 41-47 (2014)
- 3) 竹林憲司, 横田洋一, 大戸幹也, 「平成 26 年度分析データ信頼性確保事業」事業報告, 富山県薬事研究所年報, 42, 39-45 (2015)
- 4) 竹林憲司, 横田洋一, 大戸幹也, 「平成 27 年度分析データ信頼性確保事業」事業報告, 富山県薬事研究所年報, 43, 35-40 (2016)
- 5) 竹林憲司, 横田洋一, 大戸幹也, 「平成 28 年度分析データ信頼性確保事業」事業報告, 富山県薬事研究所年報, 44, 43-48 (2017)
- 6) 竹林憲司, 横田洋一, 大戸幹也, 「平成 29 年度分析データ信頼性確保事業」事業報告, 富山県薬事総合研究開発センター年報, 45, 39-44 (2018)
- 7) 竹林憲司, 横田洋一, 小笠原勝, 「平成 30 年度分析データ信頼性確保事業」事業報告, 富山県薬事総合研究開発センター年報, 46, 39-43 (2019)
- 8) 小笠原勝, 米田哲也, 竹林憲司, 「令和元年度分析データ信頼性確保事業」事業報告, 富山県薬事総合研究開発センター年報, 47, 51-55 (2020)
- 9) 小笠原勝, 米田哲也, 竹林憲司, 「令和 2 年度分析データ信頼性確保事業」事業報告, 富山県薬事総合研究開発センター年報, 48, 65-70 (2021)
- 10) 小笠原勝, 米田哲也, 竹林憲司, 「令和 3 年度分析データ信頼性確保事業」事業報告, 富山県薬事総合研究開発センター年報, 49, 51-56 (2022)
- 11) 小笠原勝, 米田哲也, 高山信幸, 「令和 4 年度分析データ信頼性確保事業」事業報告, 富山県薬事総合研究開発センター年報, 50, 51-57 (2023)
- 12) 小笠原勝, 米田哲也, 高山信幸, 「令和 5 年度分析データ信頼性確保事業」事業報告, 富山県薬事総合研究開発センター年報, 51, 42-49 (2024)
- 13) 小笠原勝, 米田哲也, 高山信幸, 「令和 6 年度分析データ信頼性確保事業」事業報告, 富山県薬事総合研究開発センター年報, 52, 66-72 (2025)

Ⅵ 講演・学会発表など

1. 講演・学会等発表・誌上発表・共同研究論文

(講演)

「天然物の品質保証とレギュラトリーサイエンス」

合田幸広

第 15 回レギュラトリーサイエンス学会学術大会, 2025.9.5, (東京都千代田区)

薬の始まりは、生薬であることは論を待たない。この生薬について、どのようにまがい物を排除し、どのように品質を保証するのかという「品質保証学」が薬学の始まりと考えている。古来からヒトは、この生薬について、何が良品であるかということを命題として、基原種や採取時期、加工方法等を標準化してきた。

ほとんどの生薬は植物基原であり、植物基原物の最大の特徴は「多成分系」であることである。多成分系となる最大の原因は、植物の二次代謝の多様性であり、遺伝的多様性に加えて、環境要因が加わり、同一の基原種の生薬であったとしても、化学的合成物と比較して、成分組成のばらつき、即ち成分多様性は、圧倒的に大きい。一方、現代の医薬品の品質保証の基本は治験薬であり、有効性と安全性が確認された治験薬と同等同質のもの、即ち標準化されたものを承認後作り続けることが求められている。

レギュラトリーサイエンス (RS) は、サイエンティフィックレギュレーションの為の、予測、評価、判断の科学と筆者は考える。ここで言うレギュレーションは、法令だけでなく、それらに基づく行政通知や、ガイドライン、ガイダンス等まで含んでいる。RS で最も重要なことは実行可能性である。実行可能性がないレギュレーションは、絵に描いた餅になる。

実行可能性を考えながら、多成分系である天然物の品質保証をどうするかは、現代においても非常に難しい命題である。食品であれば、安全性が最優先となるが、医薬品の場合、有効性も必須である。一方で、毒性アルカロイド等一部をのぞき、多くの植物成分は穏やかで多様性のある活性を持つ。日本は、漢方医学という伝統医学を持ち、生薬由来エキスを医療用医薬品として利用してきた経験を持つ。従って、天然物医薬品の現実的な品質保証については、世界で最も経験を積んでいる国家と言って良い。

RS 学会において、これまで天然物医薬品の品質保証について、積極的に取り上げられたことはなかった。これは、成分多様性を持つ天然物のエキスについて前述した医薬品の品質保証の基本にどう向き合うか、単純化した議論ができなかったことに起因すると考える。RS は実行可能性を考慮したサイエンスである。経済的に優れた天然物医薬品を、日本の医療により活用し、日本発の新規天然物医薬品を発出するためにも、本講演と次 3 題の特別講演を契機として、RS 学会で天然物医薬品のサイエンティフィックレギュレーションのあり方について考えていただければ、大変幸いである。

「天然物の品質保証」

合田幸広

第 45 回富山大学和漢医薬学総合研究所特別セミナー, 2025.12.5, (富山市)

皆さんは、品質の定義をご存じだろうか。国際標準化機構 (International Organization for Standardization: ISO) の ISO9000 では、品質とは「本来備わっている特性の集まり／要求事項を満たす程度」となる。それでは、要求事項とはなんだろうか。工業製品である「エアコン」の場合、どれくらいの時間で、どれくらい冷やすことができて、どのような特別な機能を持って (湿度コントロール、風の送り方、人の検知 etc.), どれくらい耐久性があつて、どれくらい故障しないか等それぞれが要求事項であつて、これらをそれぞれの事項毎に満たす程度が、品質ということなる。それでは、食品である「じゃがいも」ではどうか。味が良い、栄養価が高いというのが、普遍的な要求事項ではあるが、例えば、どのような料理をするかで、煮崩れしにくい方が良いか、でんぷん質の方が良いかが変わり、またポテトチップスをつくるなら、加工しやすさ、すなわち凸凹しないや、適当な大きさというのでも要求事項となる。

しかしながら、工業製品であっても、食品であっても、まず最も重要なことは、ヒトに害を及ぼさないということである。これは、要求事項というより、ヒトの生活で利用するほとんど全てのものに当てはまる基本的な要件である。

一方で、非常に特殊な例として、医薬品がある。医薬品の場合、生理活性が強いので、副作用 (ヒトにとって害を及ぼす作用) があつたとしても、ヒトにとって利益が多ければ承認される。言い換えれば、これらの製品は、害

(リスク)と利益(ベネフィット)のバランスが非常に重要なので、その判断の基準となる物があり、常にその物と同じ品質のものを作るように法律で規制されている。この判断の基準となる物ものが、承認の元となった治験薬である。

ふつうの工業製品においても、品質保証は、最終的な製品で様々な要件が決められていて、それを全て満たす物が企業の責任において出荷される。言い換えれば、品質保証に基づき規格化されたモノが販売される。また、企業の中から見て、コストと見合って品質がより良くなるならば、そのようなものは、改良品あるいは新製品として販売される。一方で、医薬品の場合は、原則、改めてヒトで治験を行わなければ、改良品でも販売できない。

それでは、天然物の場合どうであろうか、医薬品の場合、当然、上記の原則が当てはまる。しかしながら、多成分系である天然物の場合、どのレベルまで品質を標準化すべきかという問題が生じる。残念ながら日本には、この点において明確なガイドラインはない。一方で、日本では医療用医薬品として天然物が多く使用されており、メーカーレベルではノウハウは蓄積されている。

それでは天然物である食品ではどうであろうか。食品の場合、食品衛生法で、腐敗・変敗食品や、病原微生物、有害物質含有食品等、人の健康を損なうおそれがある食品の販売禁止を謳っている。前述したように、生鮮食品であれば、腐敗、変敗食品の多くは見た目で見分けることができる。また、食品の原材料である穀類や植物は、多くは栽培品なので、栽培段階から、カビや病原微生物による汚染は、注意していれば気づくことが出来る。採取の場合でも、同様に人類は、何が食べることが出来るのか、できないのかという判断を、その長い歴史の中で、「食経験」に基づき行ってきた。言い換えれば、食品の基本である安全性確保は、「食経験」に基づき行われているといえる。

それでは、サプリメントではどうであろうか、有効性(機能性)については、その有効性を保障する成分を一定量含むことが必須であるが、より重要なことは、安全性の保証である。食品の安全性保証の基本は食経験である。食品は、多成分系であるため二次代謝が変化しやすい微生物等を利用した食品/食品原材料生産では、生産系が変異や他の微生物の混入で二次代謝が変化し、新規な成分が出現したり、これまでの食経験から安全であると推定される最大値を超えるレベルで、成分組成が大幅に変わらないことを何らかの方法で検知することが重要となる。安全性確保のために、過去に食経験がない物質が検知されたり、特定の物質の含量が大きく変化したときは、直ちに生産を止めるべきである。特に、見た目で見分けることができないサプリメントの場合、既に、米国でも、欧州でも、東南アジアでも存在する、強制力のあるサプリメント法の制定が望まれる。

(学会等発表)

「質量分析計を用いた医薬品中の不純物分析」

高山信幸

日本分析化学会中部支部講演会北陸地区講演会, 2025.7.18 (富山県富山市)

【目的】医薬品には、原薬や添加剤、合成時の触媒などから元素不純物が混入することが考えられる。第十八改正日本薬局方(以下、「日局18」)では、医薬品中の元素不純物を適切に管理することが義務付けされており、当該試験のバリデーションを行ったところ、管理規定が求められている24元素のひとつであるオスミウム(Os)が添加回収試験において過剰に検出された。マイクロ波分解時にOsが硝酸と反応し、揮発性の高い四酸化オスミウム(OsO_4)が生成することで、ICP-MS測定における感度変化を起こしていると考えられる。本研究では、Osを安定化させるために錯体形成剤もしくは還元剤を添加し、Osの過大評価を抑制し、正確にOsを測定する手法を見出した。

【方法】検体の前処理は、マイクロ波分解装置(Multiwave PRO, Anton Paar社製)を用い、ICP-MSは、7900 ICP-MS(Agilent社製)を用いた。日局で規定されている全24元素を測定対象とした。Osを安定化させるための安定化剤には、錯体形成剤としてチオ尿素を用い、還元剤として、アスコルビン酸、亜硫酸ナトリウム、メタ重亜硫酸カリウムを用いた。

【結果及び考察】添加回収試験において、すべての元素について適合基準内で試験を実施することができた。硝酸及び塩酸のみを分解液とした場合のマイクロ波分解では、分解できない製剤が存在したが、フッ化水素酸を添加することで、分解が可能となった。

「多条播種機を用いたトウキ育苗の効率化に向けた検討」

田村隆幸, 宮崎有弘, 渡会三千代, 東一彦, 合田幸広, 五十嵐元子, 菱田敦之
日本生薬学会 第 71 回年会, 2025.9.14 (熊本県熊本市)

【目的】トウキ *Angelica acutiloba* (Siebold & Zucc.) Kitag. の栽培研究や産地化の取り組みは各地で推進されているものの, 国内生産が増加しない要因の一つとして, 育苗に多大な労力を要することが挙げられる。そこで, 露地育苗作業の軽労化及び時間短縮を目的として, 作業効率の高い多条播種機を用いた播種方法の確立に向け, 適切な播種条件の検討を行った。

【方法】令和 6 年 6 月 7 日, ロール式多条播種機 (アグリテクノサーチ (株) 製 FPZ-10) を使用し, ロール穴の直径 (7, 8 mm), 条間 (4, 8 cm) 及び株間 (3, 4 cm) の組み合わせにより 8 種類の播種量 (5 条: 15, 20, 28, 40 g/10 m², 10 条: 29, 42, 55, 83 g/10 m²) でトウキ種子 (発芽率: 55%) を播種した。各試験区の播種面積は 15 m² (畝の上底幅 0.75 m × 長さ 20 m) とした。播種直後には乾燥防止のため籾殻で土壌を被覆し, さらに遮光率 50% の遮光ネットをトンネル状に設置し, 9 月 20 日に撤去した。灌水は実施しなかった。1 年生苗の移植時期である翌年 3 月 27 日に各試験区の畝 1 m (0.75 m²) から苗を掘り取り, 根頭径が 5~8 mm の苗を移植に適した規格適合苗とし, この数を指標として各試験区の生産性を評価した。

【結果】40 m の播種に要する多条播種機の作業時間 (準備時間を含む) は慣行法 (手播き) の 5.6% であった。播種量と生存苗数との間には強い正の相関 (相関係数: 0.91) が認められた。規格適合苗率が特に高かったのは, ロール穴の直径を 7 mm, 条間を 8 cm (5 条), 株間を 3 cm (播種量 20 g/10 m²) 及び 4 cm (同 15 g/10 m²) に設定した 2 つの試験区で, それぞれ 18.0% 及び 15.2% の適合苗率を示した。さらに, これら 2 試験区では播種量あたりの規格適合苗数も多かった。一方, これらより多く播種した試験区では, 規格外の細い苗が増加し, 規格適合苗数は同程度又はそれ以下であった。

【考察】播種量が多いと規格外の細い苗が増加したが, 規格適合苗率は上昇しなかったことから, 苗同士の競合によって生育が阻害されたと考えられた。規格適合苗率が特に高かった上記 2 試験区は, 種子コストや苗の選別作業性も考慮し, 生産効率が高いと判断された。播種時間を約 94% 短縮できた多条播種機は, 効率的なトウキ育苗法の実現に有効であると考えられた。

【謝辞】本研究は AMED 課題番号 JP24ak0101220 の支援を受けた。

「シャクヤクバイオナーサリーシステムの開発とその活用」

山本和彦, 乾貴幸, 河野徳昭, 田村隆幸, 小島英, 米田健一, 富田武志, 山路弘樹, 小松かつ子, 吉松嘉代
第 42 回植物バイオテクノロジー学会 (神戸) 大会, 2025.9.5 (兵庫県神戸市)

「Ligand independent VDR function is important for skin homeostasis」

Satoko Kise, Shinichi Morita, Yasuharu Watanabe, Yukihiko Aikawa, Seigo Kinuya, Toshiyuki Sakak, Kaori Yasuda
International Symposium on Protein & Organelle Lifetime Regulation, 2025.10.30-11.2 (奈良県奈良市)

「皮膚ケラチノサイトの恒常性維持に寄与するリガンド非依存的ビタミン D 受容体の機能」

薮花奈, 木瀬智子, 森田慎一, 渡邊康春, 相川幸彦, 絹谷清剛, 榊利之, 安田佳織
第 98 回日本生化学会大会, 2025.11.3-5 (京都府左京区)

「ICP - MS のキャリアオーバー (メモリー) 抑制を目的とした添加剤の検討」

柚木芳, 高山信幸, 大久保学, 大西立人, 川原紗香, 木野村月南, 渋谷夢風, 下平隆樹, 徐文碩, 須田桜香, 中里大瑚, 林翔悟, 松尾葵, 山田修太郎, 米田哲也, 小笠原勝, 合田幸広
第 62 回全国衛生化学技術協議会年会, 2025.11.07 (群馬県高崎市)

【目的】ICP-MS 測定においては, Hg など一部の元素でメモリーが発生し, 測定結果の信頼性を低下させる場合がある。Hg については, 添加剤を用いたメモリー抑制法が検討されているが, その他の日局規定元素に対する検討は十分ではない。本研究では, 日局規定元素におけるメモリーの発生傾向を調べ, 添加剤を用いた抑制方法の構築を目指した。なお, 本研究は, 令和 6 年度富山県薬事研究会分析部会「ICP-MS を用いた元素不純物分析の基礎的検討」として実施した。

【結果及び考察】日局規定元素について、ICP-MSにおけるメモリーの発生しやすさを評価した結果、Os, Au, Hg および Tl において高い金属残留率が認められた。これら4元素を対象に、添加剤（システイン、グリシン、セリン、グルタチオン、DTT）によるメモリー抑制効果を評価したところ、Osでは、すべての添加剤で金属残留率の低下が認められた。Hgについても、すべての添加剤で残留率が低下し、特に DTT で顕著な抑制効果が認められた。一方、Au では DTT で抑制効果が認められたものの、その他の添加剤ではむしろ金属残留率が増加した。また、Tl では、いずれの添加剤でも金属残留率の抑制効果は認められず、DTT 添加時には残留率が約2倍に増加した。次に、Os および Hg のメモリーを簡便かつ効果的に抑制する方法として、内標準ラインを用いた添加剤の導入を検討した。内標準ラインを活用することで、洗浄用ボトルやバイアルを個別に準備する必要がなく、各試料に添加剤を直接加える操作も省略できる。また、添加剤としては、安全性が高く、分析現場でも取り扱いやすいシステインを選定した。システインを内標準ラインから導入した際の検量線への影響を確認した結果、すべての元素で良好な直線性が得られ、検量線は原点付近を通過した。続いて、内標準ラインからのシステイン導入法により、日局規定24元素の金属残留率を評価した。その結果、Os および Hg では金属残留率が大きく低下した。一方、Au および Tl では、むしろ金属残留率が増加する傾向が認められた。その他の20元素については、内標準ラインからのシステイン導入の有無にかかわらず、残留率は0.1%未満であった。

「質量分析計による医薬品中 DNA 反応性（変異原性）不純物の分析」

高山信幸, 柚木芳, 米田哲也, 小笠原勝, 合田幸広

第56回中部化学関係学会支部連合秋季大会, 2025.11.09（岐阜県岐阜市）

【目的】スルホン酸は医薬品の原薬の合成において、塩を形成する対イオンとして広く用いられるが、原薬合成の副反応生成物であるスルホン酸エステル系化合物は、発がん性を有する、または疑いのある不純物である。高血圧症の治療薬であるアムロジピン錠は、アムロジピンとベンゼンスルホン酸が反応して製造されるアムロジピンベシル酸塩を原薬としている。そのため、本医薬品の製造過程で使用されるベンゼンスルホン酸が残留アルコールと反応して、ベンゼンスルホン酸エステル系化合物を生成する可能性がある。医薬品中の変異原性不純物は極めて微量であることから、検出には、高感度な質量分析計が用いられることが多い。本研究では、アムロジピン錠中の変異原性不純物（ベンゼンスルホン酸エステル系化合物）の分析法についてバリデーションを行った。

【方法】島津製作所製の GCMS-QP2010 SE を用い、ベンゼンスルホン酸メチル、ベンゼンスルホン酸エチル、トルエンスルホン酸メチル、トルエンスルホン酸エチルを測定対象の不純物とした。添加回収試験では試料溶液中での各不純物成分の最終濃度が 150 ng/mL となるように調製した。

【結果及び考察】添加回収率を計算したところ、各不純物について 102~106 % と良好な結果を得ることができた。今後、他社メーカーの医薬品や添加回収試験の濃度変更などの検討を行い、さらなる知見の蓄積を図る。

「シャクヤク株分け苗に対する温湯浸漬処理の時期・時間が初年次生育および病害に及ぼす影響」

田村隆幸, 川部眞登, 杉山洋行, 渡会三千代, 合田幸広

薬用植物栽培研究会第7回研究総会, 2025.12.5（栃木県宇都宮市）

【目的】シャクヤク（*Paeonia lactiflora* Pallas）の株分け栽培は、栄養繁殖（クローン繁殖）であるため形質が維持され、生薬「芍薬」中の成分含量等の同等性を確保しやすく、さらに、種子繁殖より栽培期間を約2年短縮できる。しかし、親株由来の病害伝染リスクが課題であり、現在は農薬を用いた苗の浸漬処理で防除されているが、適用病害以外の病原菌等への対策は不十分である。そこで本研究では、各種病原菌およびセンチュウに対する防除効果が期待される温湯浸漬処理による防除技術の開発を目的とした。今回は基礎検討として、温湯浸漬処理の処理時期と処理時間が、植付後1年目の生育および病害に及ぼす影響を評価した。

【方法】島根県農業技術センターの普及情報 No.137（2012年）の、ボタン接ぎ木用の台木シャクヤクに対する試験結果を参考とした。薬用品種「梵天」の株分け苗（約50g、芽数3~5）を、温湯処理機を用いて48℃で処理し、流水で30分間冷却後、黒色丸型ポリポット（直径：21cm、高さ：21cm、培土：井関農機㈱製ナウエル）に植え付け、屋外で栽培した。温湯処理では、実施時期を3水準（2016年10月14日、10月24日、11月4日）、処理時間を3水準（30分、45分、60分）とした。翌年9月に草丈および茎数を、11月に地下部重量および病害（根黒斑病、根こぶ線虫病）の程度を調査した。

【結果】草丈は、いずれの処理条件でも大きな影響を受けなかった。茎数は、10月24日の60分処理および11月4

日の全処理（30, 45, 60 分処理）で有意に減少した。地下部重量については、10 月 24 日および 11 月 4 日における 45 分以上の温湯処理で減少し、特に 11 月 4 日の 45 分処理では有意差があった。根黒斑病は対照区でも発生が少なく、効果の判定には至らなかった。根こぶ線虫病は、10 月 14 日の 60 分処理では減少傾向であったが有意差はなく、その他の処理では明確な防除効果は認められなかった。

【考察】10 月 14 日の温湯処理では生育抑制が見られなかったことから、10 月後半以降の新芽の成長に伴い温度感受性が高まり、生育障害が増加する可能性が示唆された。今後は、病原菌の接種による防除効果の評価法を確立したうえで、処理温度の最適化や農薬との併用効果の検討が必要であると考えられた。

「Screening of NLRP3 Inflammasome Inhibitors Using THP-1 Cells Harboring NLRP3 Mutation」

Miho Ito, Hiroe Honda, Kaichi Kasai, Yoshinori Nagai

第 54 回日本免疫学会学術集会, 2025.12.10-12 (兵庫県姫路市)

「バイオナーサリーシステムを活用したシャクヤク種子生産体制の構築」

山本和彦, 田村隆幸, 小島英, 乾貴幸, 米田健一, 富田武志, 山路弘樹, 吉松嘉代, 河野徳昭

日本薬学会第 146 年会, 2026.3.27 (大阪府吹田市)

「生薬甘草成分 Isoliquiritigenin の NLRP3 インフラマソーム活性化阻害機序の解析」

本田裕恵, 南谷武春, 小島理恵子, 長井良憲, 高津聖志, 合田幸広

日本薬学会第 146 年会, 2026.3.27 (大阪府吹田市)

NLRP3 インフラマソームは病原体成分や内因性物質により活性化されるタンパク質複合体であり、サイトカインである IL-1 β や IL-18 の産生やパイロトシスを誘導する。また、慢性炎症性疾患発症への関与が報告されており、2 型糖尿病、アルツハイマー病、動脈硬化、痛風等の疾患との関連が報告されている。従って NLRP3 インフラマソーム活性化を阻害する物質はこれらの疾患の予防・治療に役立ち、その標的部位を明らかにすることは新規阻害剤の合成展開に役立つ可能性がある。

我々は以前、天然物ライブラリのスクリーニングを行い、生薬甘草に含まれるイソリクイリチゲニン (ILG) が NLRP3 インフラマソーム活性化を阻害し、マクロファージからの IL-1 β 産生を抑制することを明らかにした。今回、我々は ILG の NLRP3 インフラマソーム活性化阻害機序の解析を行った。インフラマソーム活性化に関与の報告がある分子への ILG の効果を調べた結果、シグナルの最上流の阻害点は NLRP3 と NEK7 の結合阻害であった。ILG は α , β -不飽和カルボニル基を有する。従って標的分子のシステイン残基と共有結合することで NLRP3 と NEK7 の結合を阻害すると予想した。細胞に ILG を前処置し、細胞洗浄後または細胞洗浄なしで NLRP3 インフラマソーム活性化剤 ATP を加え比較したところ、IL-1 β 産生抑制効果は同程度であった。さらに、この抑制効果や NLRP3 と NEK7 の結合抑制効果はシステインの添加により解除された。これらの事実は ILG が標的分子のシステインと不可逆的に結合している可能性を示唆する。そこで標的分子は NLRP3 か NEK7 ではないかと予想し、それぞれのヒトリコンビナントタンパク質と ILG を混合しペプチドマッピングを行った結果、NLRP3 と ILG の共有結合を示唆するスペクトルを得た。現在ビオチン化 ILG や結合部位と予想される部位のアミノ酸変異 NLRP3 発現細胞を用いた解析を行い標的部位の同定に取り組んでいる。

(研究成果発表会)

摂食調節の障害による過食性肥満の解析－自然免疫分子による視床下部炎症の解明－

渡邊康春

令和 7 年度薬事研究成果発表会, 2025.11.17, 薬事総合研究開発センター大会議室

メタボ予備軍や糖尿病患者では、摂食抑制が大きな負担となり、食事療法の効果が十分に得られないことがある。その背景には、摂食調節中枢である視床下部の炎症が、レプチンによる摂食抑制シグナルを障害することが要因の 1 つと考えられている。本発表では、視床下部炎症の新たな誘導機序について、演者らの研究成果を報告した。

連続生産方式による医薬品製造法の検討—連続式湿式造粒機の機種別の比較およびデザインスペース構築—

永井秀昌

令和7年度薬事研究成果発表会, 2025.11.17, 薬事総合研究開発センター大会議室

連続生産技術は製剤開発期間の短縮化や安定供給を可能とする手法として注目されており, 2023年にはICH Q13 (原薬及び製剤の連続生産に関するガイドライン) が発出されるなど, 国内でも導入と承認事例が増加している. 当センターでは県内における連続生産技術の活用促進を目的に, 装置特性の把握や管理戦略の検討等を進めてきた. その結果, 同一処方であっても機種ごとに顆粒および錠剤物性に差異が生じることを明らかにするとともに, 連続造粒におけるデザインスペースの構築について報告した.

(その他)

赤木亮之, 稲田俊行, 牛島豊彦, 重倉好博, 田中智之, 豊岡勝, 永井秀昌, 西村真一, 宮嶋勝春, 村田友昭, 高木和則, 寶田哲仁, 安本篤史, 一般社団法人 富山県薬業連合会, 「くすりのシリコンバレー TOYAMA」創造コンソーシアム: 後発医薬品の品質確保と開発ノウハウー QbD に基づく開発戦略から GMP 調査対応までー, じほう (2026)

(共同研究論文)

Hayashi M, Okuno N, Trang LTT, Inami A, Kato Y, Hamashima T, Tung DS, Watanabe Y, Kojima R, Fujikawa M, Ejiri A, Kunisawa T, Itoh F, Muramatsu M, Dung TN, Chung DT, Van Thinh P, Minamitani T, Yanagibashi T, Fujimori T, Mori H, Makino T, Takata K, Shimizu T, Sasahara M, Yamamoto S.: PDGFR α governs multiple cellular signals and plays a protective role in tumor progression. *Neoplasia*, 71:101248, 2026.

Yanagibashi T, Ikutani M, Nagai T, Arita M, Watanabe Y, Nagai Y, Takatsu K.: IL-5-producing Group 2 innate lymphoid cells promote T cell-independent IgA production in cooperation with eosinophils. *International Immunology*, 37(5):273-285, 2025.

Yamamoto K., Inui T., Kawano N., Tamura T., Sakurai S., Jinbou T, Komatsu K., Yoshimatsu K.: Improvement of culture and acclimation conditions in a bio-nursery system for *Paeonia lactiflora*. *Plant Biotechnology*, 42(2):179-183(2025).

Kato M, Goto K, Kani K, Igarashi N, Kasai K, Tada Y, Yoshimoto Y, Watanabe Y, Honda H, Ichimura-Shimizu M, Watanabe S, Tsuneyama K, Furusawa Y, Nagai Y : Cholic acid-Induced Akkermansia expansion and FGF-15 upregulation improve diabetes while exacerbating steatohepatitis in TSOD Mice. *Genes to Cells*, 30(6): e70069 (2025)

小笠原勝, 田村隆幸, 米田哲也, 高山信幸, 竹林憲司, 横田洋一, 高津聖志, 合田幸広: 日本産及び中国産サイコに含まれる精油成分の比較, 生薬学雑誌, 79 (2), 119-128 (2025)

永井秀昌, 本田裕恵, 林正幸, 合田幸広, 薬事研究会製剤部会: 連続式湿式造粒機の機種別の物性比較, PHARM TECH JAPAN, 41(10), 23-28 (2025)

2. 知的所有権

(1) 特 許

発 明 の 名 称	登 録 番 号
食後血中中性脂肪濃度上昇抑制剤及び飲食品	特許第 4815421 号
がん免疫抑制解除剤及びがん免疫治療用組成物	特許第 5548874 号
インフラマソーム活性制御剤	特許第 6036193 号
ラッカーゼ及びそれを用いたエピテアフラガリン類の製造法	特許第 6047813 号
抗腫瘍剤【参考 ベツリン誘導体 BD-23 等】	特許第 6596624 号
乾式造粒物及び該乾式造粒物を含有する固形製剤並びにそれらの製造方法	特許第 6931884 号
自然免疫を活性化する粘膜ワクチン用アジュバント	特許第 6977206 号
乾式造粒物及び該乾式造粒物を含有する固形製剤並びにそれらの製造方法	特許第 7194951 号

(2) 特許出願

名 称	出 願 ・ 公 開 番 号
カンゾウエキス及びその製造方法、並びに、腸内細菌調整用組成物、腸管バリア機能増強組成物、抗肥満用組成物、抗糖尿病用組成物、及び NLRP3 インフラマソーム活性制御用組成物	特開 2023-067303
粘膜アジュバント	国際公開番号 WO 2024/204419

指 導 業 務 な ど

< 参 考 資 料 >

関 係 例 規

Ⅶ 指 導

A. 創薬研究開発センター・製剤開発支援センター

1. 講演会

- (1) 令和7年6月25日（水） パレプラン高志会館 嘉月の間 参加者 63 名
「ヒト健康影響に関連した化学物質有害性の予測と評価：
（Q）SAR とリードアクロスの動向」
講師：国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター
毒性部 部長 山田 隆志 氏
- (2) 令和7年11月17日（月） 創薬研究開発センター大会議室 参加者 50 名
「医薬品連続生産に関する最新情報と展望」
講師：岐阜薬科大学 特任・特命教授 竹内 洋文 氏
- (3) 令和8年3月19日（木） オンライン 参加者 40 名
「戦略的大学改革・イノベーション創出環境強化事業の紹介」
講師：富山大学 理事・副学長 酒井 秀紀 氏
「固形製剤の品質管理に向けた時間領域 NMR による分子運動性評価」
講師：富山大学 学術研究部薬学・和漢系製剤設計学研究室 岡田 康太郎 氏
「日本薬剤学会小児製剤フォーカスグループ及び小児製剤コンソーシアム
委員会の取り組み紹介」
① ミニタブレットに関する考え方の整理
講師：小野薬品工業株式会社 CMC・生産本部製剤研究部 内本 武亮 氏
② EuPFI への加盟と国際連携
講師：塩野義製薬株式会社 製剤研究所 水谷 直也 氏

2. 分析技術講習会

- (1) 「HPLC メンテナンス・トラブル対応等講習会」
① 令和7年10月14日（火） 薬事総合研究開発センター大会議室 参加者 12 名
② 令和7年10月15日（水） 薬事総合研究開発センター大会議室 参加者 12 名
③ 令和7年10月16日（木） 薬事総合研究開発センター大会議室 参加者 12 名
④ 令和7年11月19日（水） 薬事総合研究開発センター大会議室 参加者 8 名
⑤ 令和7年11月20日（木） 薬事総合研究開発センター大会議室 参加者 8 名
- (2) 「分析技術講習会」
① 令和7年8月5日（火） 薬事総合研究開発センター大会議室及びオンライン
「UHPLC 分析の留意点とバイアル・カラム」株式会社島津製作所 参加者 47 名
② 令和7年10月17日（金） 薬事総合研究開発センター大会議室及びオンライン
「ICH Q3E 医薬品の抽出物及び溶出物ガイドラインに関する講習会」
ユーロフィン分析科学研究所株式会社 参加者 51 名

③令和7年7月23日（水）及び11月25日（火）

薬事総合研究開発センター相談室

「GC分析における日常のチェック項目とメンテナンスに関する講習会」

参加者延べ24名

(3)「半固形製剤技術実習」

令和8年2月17日（火） 薬事総合研究開発センター大会議室 参加者8名

ニッコールグループ 日光ケミカルズ株式会社

3. 開放試験室、試験機器の利用

件数	323件
時間数	2,547時間
試験機器の利用	385件

主な試験機器等：旋光度計，赤外分光光度計，分光光度計，高速液体クロマトグラフ，ヘッドスペースオートサンプラー付きガスクロマトグラフ，液体クロマトグラフタンデム四重極型質量分析計，ICP質量分析計など

4. 製剤機器の利用

件数	554件
時間数	2,151時間

主な製剤機器：流動層造粒コーティング装置，撹拌造粒機，錠剤機（ロータリー式），半自動PTP包装機など

5. 相談者に対する指導

相談項目	件数
試験（方法，操作，機器等）に関すること	128件
製剤（方法，操作，機械等）に関すること	145件

6. 講習会等

開催日	事業名・依頼先	場所	演題等	担当
4/15,16,17	富山県立大学工学部医薬品工学科製剤実習	薬総研	製剤実習「顆粒及び錠剤の製造及びその物性評価」	製剤研究課
7/2	富山大学工学部PME養成プログラム講義	富山大学五福キャンパス	「くすりの製造工程と製剤機械」	永井秀昌
6/11,12,20,30,7/2	富山県厚生部薬事指導課職員他	薬総研	新任GMP調査員教育訓練実習プログラム	製剤研究課試験課

6/11,18	「くすりの富山」エキスパート支援事業（滑川高校）	薬総研	分析試験，製剤試験による実習	製剤研究課試験課
6/3,10,24,7/1,8,15	初任者分析技術レベルアップ研修	薬総研	HPLC コース	試験課
6/5,12,19,26,7/3,10	初任者分析技術レベルアップ研修	薬総研	水分計・電位差滴定装置コース	試験課
7/29	薬剤師のお仕事体験学習（中学生）	薬総研	分析試験，製剤試験による実習	製剤研究課試験課
7/30	薬剤師のお仕事体験学習（高校生）	薬総研	分析試験，製剤試験による実習	製剤研究課試験課
8/4～9/30	ネクストファーマ・エンジニア養成コース	オンデマンド配信	富山のくすり（行政編）	渡会三千代
8/4～9/30	ネクストファーマ・エンジニア養成コース	オンデマンド配信	医薬品の品質試験と評価－溶出試験による品質の評価－	小笠原勝 米田哲也
8/4～9/30	ネクストファーマ・エンジニア養成コース	オンデマンド配信	実用化を目指した開発研究への取り組み－新規粘膜アジュバント－	相川幸彦
8/4～9/30	ネクストファーマ・エンジニア養成コース	オンデマンド配信	内服固形製剤の製造工程－錠剤・顆粒剤を中心に－	永井秀昌
8/4～9/30	ネクストファーマ・エンジニア養成コース	オンデマンド配信	慢性炎症と生活習慣病	本田裕恵
8/4～9/30	ネクストファーマ・エンジニア養成コース	オンデマンド配信	感染・非感染性の免疫機構と創薬	渡邊康春
10/10	富山大学薬学部創薬科学科必修科目「富山のくすり学」	富山大学 杉谷キャンパス	「くすりの製造工程と製剤機械」	永井秀昌
10/14,15,16	富山大学薬学部創薬科学科2年生製剤実習	薬総研	製剤実習「顆粒及び錠剤の製造及びその物性評価」	製剤研究課
12/4,9,10,11	「くすりの富山」エキスパート支援事業（富山北部高校）	薬総研	分析試験，製剤試験による実習	製剤研究課試験課

B. 薬用植物指導センター

1. 栽培技術指導

栽培者に対する研修会	6 件
栽培者に対する現地指導	34 件

2. 種苗の供給状況

品 名	種苗別	供給量	価 格
シャクヤク（薬用）	苗	4,612 株	40 円／株
シャクヤク（ブランド）	苗	1,700 株	60 円／株
シャクヤク（兼用）	苗	202 株	350 円／株
シャクヤクポット苗	苗	763 株	500 円／株
トウキ	種子	1.4 リットル	4,500 円／ リットル
トウキ	苗	18,470 本	7 円／本
ミシマサイコ	種子	0.5 リットル	5,000 円／ リットル

3. 薬草教室

開催日	テ ー マ	参加人員	場 所
9/27	野外で薬草を観察する会	16 名	富山市 立山山麓自然遊歩道周辺
11/28	客員研究員による薬用植物講演会	23 名	薬用植物指導センター

4. 講習会等

月日	依 頼 先 等	場 所	演 題	派遣職員名
4/25	クラシエ(株)	薬用植物指導センター	薬用植物の栽培及び加工に関する技術研修	田村隆幸
5/14	富山大学薬学部 和漢薬コース	薬用植物指導センター	薬用植物指導センターの 取組み	田村隆幸
5/28	地域おこし協力隊	薬用植物指導センター	薬用植物指導センターの 取組み	田村隆幸
5/29	くすりの語り部受講生会	薬用植物指導センター	薬用植物指導センターの 取組み	田村隆幸
5/31	日本薬剤師研修センター	薬用植物指導センター	漢方薬・生薬研修会 薬用植物園実習	田村隆幸
7/13	日本東洋医学会北陸支部	金沢勤労者プラザ	富山県におけるシャクヤク生産振興 ―研究から実生産、栽培拡大に向けて―	田村隆幸
8/1	薬用作物産地支援協議会	A P 東京八重洲	富山県におけるシャクヤクの産地拡大に向けて	田村隆幸
8/5	農林水産部農産食品課	薬用植物指導センター	令和 7 年度薬用作物生産 拡大研修会	渡会三千代 山田宗孝 田村隆幸
9/6	日本薬剤師研修センター	薬用植物指導センター	漢方薬・生薬研修会 薬用植物園実習	田村隆幸
10/9, 10/17	農林水産部農産食品課	薬用植物指導センター 園芸研究所	シャクヤク（薬用）収穫 調製研修会	渡会三千代 山田宗孝 田村隆幸
10/10	クラシエ(株)	薬用植物指導センター	薬用植物の栽培及び加工 に関する技術研修	田村隆幸
11/11	商工企画課	県立滑川高校	きらめきエンジニア授業	渡会三千代

11/21	2025PMDA-ATC 漢方セミナー	薬用植物指導センター	薬用植物指導センターの取組み	渡会三千代 山田宗孝 田村隆幸
1/7	農林水産部農産食品課	薬用植物指導センター	シャクヤク調製作業研修会	渡会三千代 山田宗孝 田村隆幸
2/17	クラシエ(株)	薬用植物指導センター	薬用植物の栽培及び加工に関する技術研修	田村隆幸
2/19	クラシエ(株)	薬用植物指導センター	薬用植物の栽培及び加工に関する技術研修	田村隆幸
2/19	生産農家	薬用植物指導センター	トウキ湯もみ研修会	渡会三千代 山田宗孝 田村隆幸

5. 生薬調製機械の利用

件数	1件
時間数	6時間

主な生薬調製機械：生薬原料洗浄機，減圧乾燥器，平型乾燥機，切断機

6. 見学者数

単位：人

	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	合計
一般見学者	215	7,090	100	22	56	67	170	55	50	10	10	20	7,865
団体見学者	5 (1)	153 (11)	1 (1)	3 (2)	34 (1)	0 (0)	119 (5)	16 (2)	5 (1)	17 (1)	25 (3)	0 (0)	378 (28)
合計													8,243

()：団体数

7. 相談

相談項目	件数	備考
種子，苗の供給，注文	304	希望者数：300名
育苗，追肥，病虫害対策，肥培管理（各論）	14	栽培農家への指導
薬用植物の栽培方法（総論）	2	シャクヤク、トウキなど
薬用植物，民間薬の薬効，利用法，副作用	12	見学者らの質問
薬用植物の調製加工，掘り取り，出荷法	1	栽培農家の出荷
転作・休耕田・耕作放棄田の対策としての薬用植物	0	
植物工場・水耕に関すること	0	
その他（機械化，鳥獣被害，販売価格など）	16	
合計	349	

VIII 試 験

1. 一般依頼試験

検体品目数	0 品目
試験項目数	0 項目

試験項目内訳

試験項目	項目数
確認試験	0
定量試験	0
計	0

2. 行政依頼試験

検体品目数	9 品目
試験項目数	9 項目

内訳

検体品目	検体数
医療用医薬品	7
一般用医薬品	2
計	9

試験項目

試験項目	項目数
定量試験	2
溶出試験	7
計	9

3. 後発医薬品品質情報提供等推進事業

医療用固形製剤の溶出試験：富山県実施分 8 品目（高脂血症治療薬）の 4 液性による溶出曲線の作成

4. 登録試験検査機関における外部精度管理試験

対象品目：エナラプリルマレイン酸塩錠：定量法（HPLC 法）

同 上 ：純度試験（HPLC 法）

IX 審 査

地方承認品目	審査件数
計	22 (52)

括弧内は再審査を含む件数

X そ の 他

1. 客員研究員招へい事業

奈良県薬事研究センター

統括主任研究員 西原 正和 先生

令和7年11月28日

講演（演題：「奈良県における薬用作物，生薬研究の最前線」）及び

薬用植物指導センター職員に対する薬用植物の栽培に関する技術指導・助言

2. 外部評価委員会の開催

開催日：令和7年10月29日

内 容：外部評価委員（5名委嘱）により4研究課題を評価

参 考 資 料

1. 条例・規則

(1) 富山県薬事総合研究開発センター条例（昭和 60 年 富山県条例第 39 号，最近改正 令和 3 年条例第 33 号）
（趣旨）

第 1 条 この条例は，富山県薬事総合研究開発センターの設置及び管理に関し必要な事項を定めるものとする。（平 30 条例 38・一部改正）

（設置等）

第 2 条 薬事に関する研究開発，試験，分析，技術指導その他これらに附随する業務を行うことにより，医薬品等の品質，有効性及び安全性の確保を図り，もつて県内の薬業の振興と県民の保健衛生の維持向上に資するため，富山県薬事総合研究開発センター（以下「薬事総合研究開発センター」という．）を設置する．

2 薬事総合研究開発センターは，次の表の左欄に掲げる施設をもつて構成し，これらの施設の位置は，それぞれ同表の右欄に掲げるとおりとする．

富山県薬事総合研究開発センター創薬研究開発センター	射水市
富山県薬事総合研究開発センター製剤開発支援センター	
富山県薬事総合研究開発センター薬用植物指導センター	中新川郡上市町

（平 30 条例 38・一部改正）

（利用又は依頼の承認）

第 3 条 薬事総合研究開発センターの施設を利用しようとする者又は薬事総合研究開発センターに試験，分析，検査，鑑定その他これらに類する行為（以下「試験等」という．）を依頼しようとする者は，あらかじめ，知事の承認を受けなければならない．

2 前項の承認には，薬事総合研究開発センターの管理上必要な条件を付することができる．

（平 30 条例 38・旧第 4 条繰上・一部改正）

（使用料等）

第 4 条 前条第 1 項の承認を受けた者（以下「利用者」という．）は，別表に定める金額の範囲内において，施設又は試験等の所要経費を勘案して規則で定める額の使用料又は手数料を納めなければならない．

2 前項の規定にかかわらず，県内に住所又は事務所若しくは事業所を有する者以外の者に係る使用料又は手数料の額は，同項に定める額に 100 分の 150 を乗じて得た額（その額に 10 円未満の端数があるときは，これを切り捨てた額）とする．

（平 30 条例 38・旧第 5 条繰上・一部改正）

（使用料等の徴収方法）

第 5 条 使用料及び手数料は，知事の発行する納入通知書により徴収する．ただし，これにより難い場合においては，口頭又は掲示の方法により現金で徴収する．

（令 3 条例 33・全改）

（使用料等の減免）

第 6 条 知事は，特別の理由があると認めるときは，使用料又は手数料を減免することができる．

（平 30 条例 38・旧第 7 条繰上）

（使用料等の還付）

第 7 条 既に徴収した使用料又は手数料は，還付しない．ただし，知事は，災害その他特別の理由により利用者が薬事総合研究開発センターの施設を利用できなかつたとき，又は依頼された試験等ができなかつたときは，使用料又は手数料の全部又は一部を還付することができる．

（平 30 条例 38・旧第 8 条繰上・一部改正）

（承認の取消し等）

第 8 条 知事は，次の各号のいずれかに該当する場合は，第 3 条第 1 項の承認を取り消し，又はその利用を制限することができる．

- (1) 利用者がこの条例又はこの条例に基づく規則の規定に違反したとき．
- (2) 利用者が第 3 条第 2 項の規定による承認の条件に違反したとき．
- (3) 利用者が正当な手続によらないで利用の目的，内容等を変更したとき．

(4) その他知事が薬事総合研究開発センターの管理上特に必要があると認めるとき。

(平 30 条例 38・旧第 9 条繰上・一部改正)

(規則への委任)

第 9 条 この条例の施行に関し必要な事項は、規則で定める。

(平 30 条例 38・旧第 10 条繰上)

別表 (第 4 条関係)

1 使 用 料

種別	単位	金額	備考
製剤機械	1 台につき 1 時間	200 円以上 4,500 円以下	1 利用時間が単位に満たない場合又は単位未満の端数がある場合は、当該単位まで切り上げる。 2 製剤機械、生薬調製機械及び試験機器の利用に係る消耗品費及び原材料費は、実費を徴収する。
生薬調製機械	1 台につき 1 時間	300 円以上 600 円以下	
試験機器 (試験等の性質上 1 日単位で使用する機器を除く。)	1 台につき 1 時間	100 円以上 17,200 円以下	
試験機器 (試験等の性質上 1 日単位で使用する機器に限る。)	1 台につき 1 日	3,100 円以下	
開放試験室	1 時間	200 円以下	
動物実験室	1 ケージにつき 1 日	500 円以下	

2 手 数 料

種別	単位	金額	備考
日本薬局方医薬品又は日本薬局方外医薬品の適否試験	1 検体	6,900 円以上 19,600 円以下	
日本薬局方の一般試験法又はこれに準ずる試験 (細胞を用いる試験を除く。)	1 検体につき 1 項目	2,700 円以上 5,200 円以下	
定性又は定量試験 (細胞を用いる試験を除く。)	1 検体につき 1 成分	2,700 円以上 5,200 円以下	
製剤中の共存成分の影響試験	1 検体につき 1 項目	8,200 円以下	
細胞を用いる試験	1 検体又は 10 試料	65,500 円以上 67,200 円以下	試料の数量が単位に満たない場合又は単位未満の端数がある場合は、当該単位まで切り上げる。
その他の試験 (細胞を用いる試験を除く。)	1 検体又は 1 検体につき 1 検査	900 円以上 11,100 円以下	
機器操作技術指導	1 時間	4,200 円以下	
製品の規格及び試験方法の作成	1 件	8,700 円以下	
試験成績書の謄本の交付	1 通	900 円以下	
文献複写	1 枚	100 円以下	

(2) 富山県薬事総合研究開発センター条例施行規則（昭和 60 年 富山県規則第 47 号，最近改正 令和 8 年規則第 11 号）

（趣旨）

第 1 条 この規則は，富山県薬事総合研究開発センター条例（昭和 60 年富山県条例第 39 号，以下「条例」という。）の施行に関し必要な事項を定めるものとする。

（平 30 規則 13・一部改正）

（利用の承認申請等）

第 2 条 条例第 3 条第 1 項の規定により，富山県薬事総合研究開発センター（以下「薬事総合研究開発センター」という。）の施設の利用の承認を受けようとする者は施設利用申請書（様式第 1 号）を，薬事総合研究開発センターに試験，分析，検査，鑑定その他これらに類する行為（以下「試験等」という。）を依頼しようとする者は試験等依頼書（様式第 2 号）を知事に提出しなければならない。

（平 30 規則 13・一部改正）

（利用の承認等に付する条件）

第 3 条 条例第 3 条第 2 項の規定により利用の承認に付する条件は，次の各号に掲げる事項とする。

- (1) 利用の目的以外に利用しないこと。
- (2) 施設の現状を変更しないこと。
- (3) 利用する権利を他人に譲渡しないこと。
- (4) その他薬事総合研究開発センター所長（以下「所長」という。）が指示した事項を守ること。

2 条例第 3 条第 2 項の規定により依頼の承認に付する条件は，次の各号に掲げる事項とする。

- (1) 検体は，その成分の組成に変化が生じないようにすること。
- (2) 検体は，試験等を行つた後においても返還しないこと。ただし，所長が特別の理由があると認めるときは，この限りでない。

（平 30 規則 13・一部改正）

（使用料等の額）

第 4 条 条例第 4 条第 1 項の規定による使用料及び手数料の額は，別表のとおりとする。ただし，同表に定める金額のうち範囲を定めたものについては，試験等の所要経費を基準として別に知事が定める。

（平 30 規則 13・一部改正）

（試験等の結果の通知）

第 5 条 所長は，試験等を完了したときは，その結果を成績通知書により依頼者に通知するものとする。

（平 30 規則 13・一部改正，令 3 規則 20・旧第 6 条繰上）

（休所日及び利用時間）

第 6 条 薬事総合研究開発センターの休所日は，次に定めるとおりとする。ただし，知事は，特に必要があると認めるときは，これを変更し，又は臨時に休所日を定めることができる。

- (1) 日曜日及び土曜日
- (2) 国民の祝日に関する法律（昭和 23 年法律第 178 号）に規定する休日
- (3) 1 月 2 日及び 3 日
- (4) 12 月 29 日から同月 31 日までの日

2 薬事総合研究開発センターの利用時間は，午前 9 時から午後 4 時までとする。ただし，知事は，特に必要があると認めるときは，これを変更することができる。

（平元規則 31・平 4 規則 58・平 30 規則 13・一部改正，令 3 規則 20・旧 7 条繰上）

別表（第 4 条関係）

1 使 用 料

(1) 製剤機械

種別	単位	金額
超微粉碎機	1 台につき 1 時間	250 円
卓上型粉碎機		4,130 円
振動ふるい機		380 円
混合機（V 型大型）		250 円

容器着脱式回転混合機	1 台につき 1 時間	660 円
押出造粒機（バスケット型）		400 円
押出造粒機（スクリー型）		880 円
かくはん 攪拌造粒機		980 円
整粒機		530 円
球型造粒機		380 円
錠剤機（単発式）		250 円
錠剤機（ロータリー式）		3,180 円
流動層造粒コーティング装置		850 円
複合型流動層造粒コーティング装置		4,430 円
錠剤フィルムコーティング装置		2,710 円
練合機		250 円
乾式造粒機		1,870 円
半自動 PTP 包装機		3,120 円
造粒乾燥連続装置		4,340 円
貼付剤試作機		2,680 円
圧縮特性評価装置		2,010 円
卓上走査型電子顕微鏡		1,410 円
真空乳化分散装置		1,090 円
比表面積測定装置		610 円

(2) 生薬調製機械

種別	単位	金額
生薬原料洗浄機	1 台につき 1 時間	580 円
減圧乾燥機		510 円
平型乾燥機		420 円
切断機		610 円

(3) 試験機器

種別	単位	金額
屈折計	1 台につき 1 時間	250 円
ECD 及び FID 付きガスクロマトグラフ並びに ガスクロマトグラフ質量分析計		1,070 円
ヘッドスペースサンプラ，オートサンプラ及 び FID 付きガスクロマトグラフ		510 円
カールフィッシャー水分計（容量滴定法）		880 円
カールフィッシャー水分計（電量滴定法）		670 円
電位差滴定装置		980 円
電気炉		360 円
液体クロマトグラフ		1,140 円
原子吸光光度計		1,050 円
ICP 質量分析計		5,000 円

真空凍結乾燥機	1 台につき 1 時間	2,140 円
分光光度計		490 円
赤外分光光度計		490 円
顕微赤外分光光度計		2,220 円
旋光計		1,270 円
フォトダイオードアレイ検出器付き超高速液体クロマトグラフ		650 円
蛍光検出器, 紫外可視吸光光度検出器, 示差屈折率検出器, 質量分析計, 蒸発光散乱検出器及びフォトダイオードアレイ検出器付き超高速液体クロマトグラフ		3,420 円
液体クロマトグラフ飛行時間型質量分析計		17,200 円
ナノ液体クロマトグラフィオントラップ型質量分析計		15,300 円
液体クロマトグラフタンデム四重極型質量分析計		6,610 円
溶出試験器		1,070 円
キャピラリー電気泳動装置		1,680 円
融点測定装置		840 円
口腔内崩壊錠試験器		610 円
多機能型粉体物性測定器		1,260 円
錠剤硬度計		220 円
インビボイメージング装置		3,090 円
味認識装置		2,390 円
共焦点レーザー顕微鏡		2,190 円
フローサイトメーター		1,760 円
セルソーター		6,250 円
レーザー回折式粒子径分布測定装置		1,060 円
ボックス型蛍光顕微鏡		810 円
凍結切片作製装置		1,890 円
リアルタイム PCR 装置		1,070 円
分子間相互作用解析装置		5,110 円
ケミルミイメーキングシステム		920 円
大型オートクレーブ		560 円
オートクレーブ		170 円
安全キャビネット		280 円
微量高速冷却遠心機		240 円
超遠心機		3,710 円
遠心濃縮装置		560 円
冷却遠心機		820 円
ミクロ天秤		220 円
セミミクロ天秤		150 円
倒立型ルーチン顕微鏡		170 円

セミドライプロットティング装置	1 台につき 1 日	150 円
シーソーシェーカー		140 円
恒温恒湿器		130 円
パーティクルカウンター		2,410 円
校正用光学フィルター		780 円
日本薬局方標準温度計		690 円
CO ₂ インキュベーター		3,430 円

(4) 開放試験室

種別	単位	金額
開放試験室	1 時間	200 円

(5) 動物実験室

種別	単位	金額
マウス飼育ケージ	1 ケージにつき 1 日	470 円

2 手 数 料

(1) 日本薬局方医薬品又は日本薬局方外医薬品の適否試験

種別	単位	金額
定量試験を含む日本薬局方又は日本薬局方外医薬品の適否試験	1 検体	20,960 円
定量試験を含まない日本薬局方又は日本薬局方外医薬品の適否試験		13,820 円
定量試験を含まない生薬の日本薬局方又は日本薬局方外医薬品の適否試験		7,270 円

(2) 日本薬局方の一般試験法又はこれに準ずる試験（細胞を用いる試験を除く.）

種別	単位	金額
特殊機械器具を使用する日本薬局方の一般試験法又はこれに準ずる試験	1 検体につき 1 項目	5,470 円
その他の日本薬局方の一般試験法又はこれに準ずる試験		2,840 円

備 考

特殊機械器具とは、液体クロマトグラフ、ガスクロマトグラフ、分光光度計、赤外分光光度計、顕微赤外分光光度計、分光蛍光光度計、原子吸光光度計、ICP 質量分析計、色差計、電位差滴定装置、カールフィッシャー水分計、溶出試験器、旋光計、キャピラリー電気泳動装置及び融点測定装置をいう。

(3) 定性又は定量試験（細胞を用いる試験を除く.）

種別	単位	金額
特殊機械器具を使用する定性又は定量試験	1 検体につき 1 成分	5,470 円
その他の定性又は定量試験		2,840 円

備 考

- 特殊機械器具とは、液体クロマトグラフ、ガスクロマトグラフ、分光光度計、赤外分光光度計、顕微赤外分光光度計、分光蛍光光度計、原子吸光光度計、ICP 質量分析計、色差計、電位差滴定装置、カールフィッシャー水分計、溶出試験器、旋光計、キャピラリー電気泳動装置及び融点測定装置を

いう。

- 2 液体クロマトグラフ又はガスクロマトグラフを使用する1試験で、多成分を同時に確認又は定量できる場合は、1成分とする。

(4) 製剤中の共存成分の影響試験

種別	単位	金額
製剤中の共存成分の影響試験	1検体につき1項目	8,710円

備考

液体クロマトグラフ又はガスクロマトグラフを使用する1試験で、多成分を同時に確認又は定量できる場合は、1成分とする。

(5) 細胞を用いる試験

種別	単位	金額
細胞毒性試験	1検体	70,360円
細胞機能解析試験	10試料	68,360円

(6) その他の試験（細胞を用いる試験を除く。）

種別	単位	金額
生薬の鑑定	1検体	9,170円
容器又は包装材料の試験		9,020円
その他の試験	1検体につき1検査	980円以上 11,910円以下

(7) 機器操作技術指導

種別	単位	金額
機器操作技術指導	1時間	4,330円

(8) 製品の規格及び試験方法の作成

種別	単位	金額
製品の規格及び試験方法の作成	1件	9,170円

(9) 試験成績書の謄本の交付

種別	単位	金額
試験成績書の謄本の交付	1通	890円

(10) 文献複写

種別	単位	金額
文献複写	1枚	30円

様式第1号(第2条関係)

施設利用申請書

年 月 日

富山県知事 殿

住 所
申請者
氏 名
(法人にあつては、その名称及び代表者の氏名)
電話番号

富山県薬事総合研究開発センター条例第3条第1項の規定により、薬事総合研究開発センターの施設を利用したいので、次のとおり申請します。

施設 の 名 称 (製剤機械、生薬調製機械若しくは試験機器の名称、開放試験室又は動物実験室)							
利 用 の 期 間 及 び 時 間	年	月	日	時	分から	日	時間
	年	月	日	時	分まで		
利 用 の 目 的							
県 内 の 事 務 所 又 は 事 業 所	所 在 地						
	名 称						
	電話番号						
その他必要な事項							

備考 「県内の事務所又は事業所」欄は、県外の申請者が県内に事務所又は事業所を有する場合に記入すること。

様式第2号(第2条関係)

試験等依頼書

年 月 日

富山県知事 殿

申請者 住 所
氏 名
(法人にあつては、その名称及び代表者の氏名)
電話番号

富山県薬事総合研究開発センター条例第3条第1項の規定により、試験等を次のとおり依頼します。

検 体 の 名 称 (文献複写にあつては、文献名)		
検 体 数 (文献複写にあつては、記入を要しない。)		
依 頼 の 内 容 (文献複写にあつては、複写の箇所及び枚数)		
依 頼 の 理 由		
県内の事務所又は事業所	所在地	
	名 称	
	電話番号	
その他必要な事項		

備考 「県内の事務所又は事業所」欄は、県外の申請者が県内に事務所又は事業所を有する場合に記入すること。

2. 年報投稿及び執筆規程

(1) 富山県薬事総合研究開発センター年報投稿及び執筆規程

(構成)

第1条 年報の構成は、次のとおりとする。

組織・運営編

I 総括

A. 薬事総合研究開発センター

1. 沿革
2. 位置・交通
3. 土地
4. 建物
5. 組織・業務（薬用植物指導センターを含む）
6. 職員（薬用植物指導センターを含む）
7. 予算（薬用植物指導センターを含む）
8. 備品

B. 薬用植物指導センター

1. 沿革
2. 位置・交通
3. 土地
4. 建物
5. 主要備品

II 薬事総合研究開発センターこの一年

1. 各センターの取り組み
2. 視察・取材等

III 研究活動

1. 競争的外部資金等を活用した研究課題
2. 「くすりのシリコンバレー TOYAMA」創造コンソーシアム研究開発事業
3. 上記以外の研究課題

研究業績編

IV 研究報告

V 資料

VI 講演・学会発表など

1. 講演・学会・誌上発表
2. 共同研究論文リスト
3. 知的所有権

指導業務編

VII 指導

A. 創薬研究開発センター・製剤開発支援センター

1. 講演会
2. 分析技術講習会
3. 開放試験室・試験機器の利用
4. 製剤機器の利用
5. 相談者に対する指導
6. 講習会等

B. 薬用植物指導センター

1. 栽培技術指導
2. 種苗の供給状況
3. 薬草教室
4. 講習会等

- 5. 生薬標本、鉢植等の貸出
- 6. 見学者数
- 7. 相談

VIII 試験

- 1. 一般依頼試験
- 2. 行政依頼試験
- 3. 後発医薬品品質情報提供等推進事業
- 4. 登録試験検査機関における外部精度管理試験

IX 審査

X その他

- 1. 客員研究員招へい事業
- 2. 外部評価委員会の開催

参考資料編

- 1. 条例・規則

(研究報告)

第2条 研究報告の記載については、次のとおりとする。

- 1. 投稿者は原則として当センター職員とする。但し、共著者はこの限りでない。

2. 投稿内容

- (1) 研究領域は本県の薬業の振興と県民の保健衛生の向上に資する研究及び調査とする。
- (2) 種別は総説と研究論文とし、後者は査読付き論文として発表されていないものに限る。

総説：数年以上にわたって行われた研究や調査を中心にして、特定の主題について包括的・系統的に総括したもの。

研究論文：科学として新規性のある内容について、科学論文の形式に則り記述したもの。

3. 原稿様式

原稿は Word (MacWord を含む) で作成する。最初にタイトル、著者の氏名、及び所属を和文で記載し、次に同じ内容を英文で記載する。総説を提出する場合は、右上部に「総説」と記載する。研究論文の場合は記載しない。

書式は以下のとおりとする。

用紙サイズ及び行数：A4 縦、40 字×40 行程度とし行番号を表示する

フォント：日本語 MS 明朝、MS ゴシック 英数字 Times New Roman

文字サイズ：12 ポイント (タイトル) 10.5 ポイント (タイトル以外)

タイトル、著者及び所属

- (1) タイトルはゴシック体でセンタリングする。
- (2) サブタイトルは行をかえ、前後にハイフンをつける。
- (3) サブタイトルが二つ以上ある場合は、Ⅰ、Ⅱ、・・・とする。
- (4) シリーズのタイトルはタイトルの後に (第1報)、(第2報) とする。
- (5) 著者名はタイトルの中央下に記す。
- (6) 著者が所外者の場合、著者の所属は著者の右上に * 印をつけ脚注に記す。ただし、脚注が2つ以上になる場合には、最初に出現したものから順次一連の通し番号を付けて * 1, * 2, ... の順に列記する。
- (7) 英文タイトル (名詞、代名詞、形容詞等の頭文字は大文字) 及びローマ字の著者名 (フルネーム、姓は全部大文字、名は頭文字のみ大文字) を著者名の中央下に記す。

原稿の構成

総 説：タイトル、著者名、所属、要旨、本文、文献の順に記載する。本文の構成は自由とする。見

出しはゴシック体でセンタリングする。

研究論文：タイトル，著者名，所属，要旨，緒言，方法，結果，考察，謝辞，文献の順に記載する。結果と考察は合わせて結果及び考察としてもよい。見出しはゴシック体でセンタリングする。

要旨及びキーワード

- (1) 要旨は日本語及び英語で併記し，日本語は 400 字程度（スペースを含む），英語は 200 語程度とする。
- (2) キーワードは日本語及び英語で併記する。選定数は 5 個以内とする。英文要旨のあと 1 行あけて記載する。固有名詞，略語を除き小文字で記す。各キーワードはカンマで区切り，続けて記載する。単語，句，略語のいずれを用いてもよい。特殊な場合（例：tablets）を除き単数形とする。冠詞はつけない。

図・表・写真

- (1) 図・表・写真はそれぞれ通し番号をつけ，本文中の引用は番号による。
- (2) 図・表・写真は図 1, Fig. 1, 表 1, Table 1, 写真 1, Photo. 1 とする。
- (3) 図・表・写真は白黒とする。
- (4) 図・表・写真の表題及び説明は和文あるいは英文で記載する。これらは図・表写真に付随して記載するか，文献の後にまとめて記載してもよい。

文献

- (1) 本文の引用箇所の右肩に通し番号を右側片カッコをつけて 1), 2, 3), 4-6) のように記し，本文の末尾に引用番号順に列記する。
- (2) 欧文雑誌の記号は，Chemical Abstract による。
- (3) 文献の句読点は半角「，」と「.」を用いる。句読点の後に半角スペースを入れる
- (4) 原則として著者名は省略しない。
- (5) 投稿中，未発表，私信による等の用語を用いる。
- (6) 学術雑誌からの引用形式は原則として著者名，標題，雑誌名，巻数，開始ページ及び最終ページ，（発行年）の順に記載する。ただし不明の場合はこの限りではない。

例：

- ア. Hyuga M., Uchiyama N., Yoshimura M., Amakura Y., Hyuga S., Uema M., Tsuji G., Nishi A., Odaguchi H., Demizu Y., Goda Y.: Molecular Mechanism of Anti-SARS-CoV-2 Activity of Ephedra Herb Macromolecule Condensed-Tannin Contained in Ephedrine Alkaloids-Free Ephedra Herb Extract, Chem. Pharm. Bull., 73 (7) , 621-626 (2025)
- イ. 合田幸広：レギュラトリーサイエンスの立場から薬剤師のプロフェッショナリズムを考える，薬学雑誌，144 (6) , 607-609 (2024)

- (7) 図書からの引用形式は原則として著者名，図書名，版数または巻数，ページ数，発行所，発行地，発行年の順に記載する。ただし不明の場合はこの限りではない。

例：

- ア. 合田幸広：“qNMR プライマリーガイド” 日本薬局方における qNMR の採用と経緯，pp.160-167, 共立出版，東京 (2015)
- イ. Goda Y., Anjiki N., Kawahara N.: “Biochemical Sensors: Mimicking Olfactory and Gustatory Senses”, Chapter 12: Herbal Medicines, pp.205-227, Pan Stanford Publishing Pte. Ltd., Singapore (2013)

- (8) インターネットからの引用形式は原則として標題，URL の順に記載する。

例：

- ア. 富山県薬事総合研究開発センター 所長挨拶，
<https://www.pref.toyama.jp/1285/kurashi/kenkou/iryou/1285/intro/greeting.html>
- イ. 第十八改正日本薬局方，通則 25, p.70,
<https://www.mhlw.go.jp/content/11120000/000788359.pdf>

- (9) 記念誌等からの引用形式は原則として著者名，標題，記念誌名等，開始ページ及び最終ページ，（発行年）の順に記載する。

例：

ア．合田幸広：“薬学の基礎，品質保証と生薬学”，植物化学：70名の寄稿集 常磐植物化学研究所「創業70周年記念誌」，pp.85-86（2019）

- (10) 学術講演からの引用形式

例：

ア．合田幸広：第15回レギュラトリーサイエンス学会学術大会（東京，2025）

4. 執筆様式

文体・文字

- (1) 現代仮名づかい，新送り仮名，常用漢字を使用してできるだけわかりやすい表現の口語体を用い横書きとする。
- (2) 動物名及び植物名はカタカナ，学名はイタリック体を用いる。
- (3) 本文中では物質名を化学式であらわさない。ただし，反応式で表す部分は化学式を用いてもよい。
例：CH₃COOH，NaOH は，酢酸，水酸化ナトリウム（NaOH，EtOH は不可）
- (4) 物質名あるいは分析法などを略記するときは，和文，英文とも最初は正式な名称とともに示す。
例えば「イソニコチン酸（INA）」，「示差熱分析法－ガスクロマトグラフィー（DTA-GC）」と書き「イソニコチン酸（以下 INA と略す）」などとししない。

区画及び行のとりかた

- (1) 本文の句読点は全角「，」「.」「。」を用い，「，」「。」「。」とししない。
- (2) 改行毎に1コマあける。
- (3) 英文字・数字は，半角で記載する。
- (4) 式は改行して書く。

数字・数式・単位・記号

- (1) 数字は原則として算用数字（アラビア数字）を用いる。
- (2) 単位は原則として国際単位系（SI）を用いる。
- (3) 記号は国際的に慣用されているものを用いる。

5. 審査

- (1) 編集委員会は担当編集委員を定め，編集委員は複数の査読員に査読を依頼する。
査読員のうち半数以上は外部査読員とする
- (2) 編集委員は査読員の意見を著者に伝え，必要に応じ修正を求める。
- (3) 原稿の採否及び分類は，原則担当の編集委員が査読員（2名）の意見に基づき判断する。
- (4) 査読員の意見が割れたときは，編集委員は新たに査読員を加えることができる。
- (5) 編集委員会は，字句や表現の訂正，図表の書き直しなどを求めることができる。

6. 校正

原則として著者が校正を行い，編集委員が確認する。校正段階で内容の増加，行数の増加は認めない。

7. この投稿規定は，2026年4月1日から適用する。

(2) 富山県薬事総合研究開発センター年報発行要領

(総則)

- 1 この発行要領は富山県薬事総合研究開発センター（以下「センター」という。）の業務報告書（以下「年報」という。）の発行に関して必要なことを定めたものである。

(誌名)

- 2 業務報告書の誌名は、「富山県薬事総合研究開発センター年報」とし、英名は「Annual Report of Toyama Prefectural Institute for Pharmaceutical Research」とする。

(編集発行)

- 3 年報の発行者は富山県薬事総合研究開発センター所長（以下「所長」という。）とする。
- 4 年報の内容は組織・運営編、研究業績編、指導業務編及び参考資料からなり、研究業績は原著、調査報告、資料、短報、総説、所外誌に掲載された論文及び学会記録等で、原則として和文とする。
- 5 掲載の資格として、センター職員の業績によるものでなければならない。ただし、センター職員が主担者となっている場合は、センター職員以外の者との共著はこの限りではない。センター職員以外の者が主担者となっている場合は、抄録のみを掲載する。
- 6 年報は原則として年1回9月に発行するものとする。なお、原稿は7月末日までに編集委員会に提出しなければならない。

(広報委員会)

- 7 年報を企画編集するために広報委員会（以下「委員会」という。）をおく。委員会の委員は、センター運営委員会で決定された職員をもって構成する。

委員会の円滑な運営を図り、会務を総括するために委員長及び副委員長各1名をおく。委員長は研究協力課長とする。副委員長は製剤開発支援センター長とし、委員長が事故あるときはその職務を代行する。

- 8 委員会は原稿を編集し、各委員、各課長、各センター長、次長及び所長に回覧し、校閲及び決裁を受ける。
- 9 委員会は委員長が招集する。ただし、3分の1以上の委員から要請があった場合は委員会を開催しなければならない。

(様式)

- 10 年報及び原稿の様式は別に定める「投稿及び執筆規程」による。ただし、所外誌に掲載された論文等は、この規程によらない。

(その他)

- 11 「発行要領」及び「投稿及び執筆規程」に定められていない事項についてはその都度委員会で協議する。

(施行)

- 12 この要領は令和2年4月1日から施行する。

広報委員

委員長	浅井直子
副委員長	小笠原 勝
委員	渡会 三千代
	坂田 聖子
	柳 橋 努
	永井 秀昌
	高山 信幸
	田村 隆幸

富山県薬事総合研究開発センター年報

令和 7 年度
2026年 9 月 1 日

発行者 富山県薬事総合研究開発センター
所長 合 田 幸 広

〒939-0363 富山県射水市中太閤山17-1
TEL (0766) 56-6026
FAX (0766) 56-7285

<https://www.pref.toyama.jp/1285/kurashi/kenkou/iryou/1285/index.html>

印刷 株式会社タニグチ印刷
〒933-0238 富山県射水市東明中町7-1
TEL (0766) 86-1376(代)
FAX (0766) 86-1578

