

日本薬局方の参考情報の改正（案） について

	ページ
第十八改正日本薬局方第二追補の参考情報（案）の概要	1
別 添 参考情報 新旧対照表	3
参考情報改正（案）	資料 No. 2 - 1

令和6年1月22日
日本薬局方部会

第十八改正日本薬局方第二追補の参考情報（案）の概要

第十八改正日本薬局方第二追補参考情報（案）の主な改正点は、次のとおりである。

1. 参考情報

1.1. 新たに作成する項目は次のとおりである。

(1)	原子間力顕微鏡によるナノ粒子のサイズ及び形態解析法〈G1-9-182〉	(2)	日本薬局方における秤量の考え方〈G1-6-182〉
(3)	はかり(天秤)の校正、点検と分銅〈G1-7-182〉	(4)	はかり(天秤)の設置環境、基本的な取扱い方法と秤量時の留意点〈G1-8-182〉
(5)	フローサイトメトリー〈G3-16-182〉	(6)	フローイメージング法によるバイオテクノロジー応用医薬品(バイオ医薬品)原薬/製剤中の不溶性微粒子の評価法〈G3-17-182〉

(1) 「G1. 原子間力顕微鏡によるナノ粒子のサイズ及び形態解析法〈G1-9-182〉」

第十七改正日本薬局方第二追補でリポソーム注射剤の製剤各条が収載されたことを踏まえ、ナノ医薬品の分析手法の一つとして原子間力顕微鏡を用いたサイズ・形態評価手法を新規に収載するものである。

(2) 「G1. 日本薬局方における秤量の考え方〈G1-6-182〉」

今般の追補で一般試験法「9.62 計量器・用器」が改正されることに合わせ、秤量の考え方を具体的に示すため、新規に収載するものである。

(3) 「G1. はかり(天秤)の校正、点検と分銅〈G1-7-182〉」

はかり(天秤)の校正、点検と分銅に関する留意点を示すため、新規に収載するものである。

(4) 「G1. はかり(天秤)の設置環境、基本的な取扱い方法と秤量時の留意点〈G1-8-182〉」

はかり(天秤)の基本的な取扱いと留意点を示すため、新規に収載するものである。

(5) 「G3. フローサイトメトリー〈G3-16-182〉」

生物薬品の目的物質の標的細胞への結合活性の評価、細胞応答の評価、及び生物活性試験に用いる培養細胞の適格性評価等に用いられる個々の光学的特性を分析する測定手法を新規に収載するものである。

(6) 「G3. フローイメージング法によるバイオテクノロジー応用医薬品(バイオ医薬品)原薬/製剤中の不溶性微粒子の評価法〈G3-17-182〉」

タンパク質医薬品の不溶性微粒子の評価方法として有用と考えられるフローイメージング法によるタンパク質医薬品注射剤などバイオ医薬品に含まれる不溶性微粒子の評価法を新規に収載するものである。

1.2. 改正する項目は次のとおりである。

(1)	固体又は粉体の密度 〈G2-1-182〉	(2)	粉体の流動性 〈G2-3-182〉
(3)	ペプチドマップ法 〈G3-3-182〉	(4)	日本薬局方収載生薬の学名表記について 〈G5-1-182〉
(5)	生薬及び生薬製剤の薄層クロマトグラフィー 〈G5-3-182〉		

(1) 「G2. 固体又は粉体の密度 〈G2-1-182〉」

日米欧三薬局方で改正が合意された試験法である「3.01 かさ密度測定法」、及び参考情報「粉体の流動性 〈G2-3-182〉」において、かさ密度の用語の定義が改正されたことを踏まえ用語の修正を行うものである。

(2) 「G2. 粉体の流動性 〈G2-3-182〉」

日米欧三薬局方で改正が合意された内容を反映し、かさ密度の用語の定義を見直すとともに、全般的な用語の整備等を行うものである。

(3) 「G3. ペプチドマップ法 〈G3-3-182〉」

日米欧三薬局方で改正が合意された内容を反映するものである。

(4) 「G5. 日本薬局方収載生薬の学名表記について 〈G5-1-182〉」

日本薬局方収載生薬の基原植物の科名は新エングラの分類体系によるが、現在の植物分類学では DNA 情報に基づく APG の分類体系が主に用いられることから、新エングラと APG の分類体系における科名の関係を併記するものである。

(5) 「G5. 生薬及び生薬製剤の薄層クロマトグラフィー 〈G5-3-182〉」

一般試験法「2.03 薄層クロマトグラフィー」の改正に併せて、生薬及び生薬製剤に特有の事項の解説に特化した内容となるよう見直すものである。

1.3. 廃止する項目は次のとおりである。

(1)	動的光散乱法による液体中の粒子径測定法 〈G2-4-161〉
-----	-----------------------------------

(1) 「G2. 動的光散乱法による液体中の粒子径測定法 〈G2-4-161〉」

今般の追補で一般試験法「3.07 動的光散乱法による液体中の粒子径測定法」が新規収載されることに合わせ、削除するものである。

[参考情報 新旧対照表]

G2. 固体又は粉体の密度 (G2-1-182)

新	旧	備考
<p>固体又は粉体の密度 (G2-1-182)</p> <p>集合体としての固体又は粉体の密度は、粒子間及び粒子内部に存在する微細な空隙部分の体積の評価方法により、異なる定義がなされ、それぞれ異なる数値が与えられ、かつ実用上の意味も異なる。通常、固体又は粉体の密度は三つのレベルで定義される。</p> <p>(1) 結晶密度 空隙のない均一系とみなされ、真密度とも称される。</p> <p>(2) 粒子密度 開口部のない空隙、又は気体により置換されない粒子内細孔も固体又は粉体の体積として評価される。</p> <p>(3) かさ密度 粉体層内に形成される空隙部分も固体又は粉体の体積として評価されることから、みかけ密度とも称される。通常、疎充填時の粉体の密度は疎充填かさ密度、タップ充填時の密度はタップ充填かさ密度と定義される。</p> <p>一般に、液体や気体の密度は温度と圧力のみ依存するが、固体又は粉体の密度は分子又は粒子の集合状態に依存する。したがって、固体又は粉体の密度は、当該物質の結晶構造、結晶化度によって変化することはもちろんであるが、試料が非晶質であるか、その一部が非晶質である場合、試料の調製法又は処理法によって変化する。したがって、二つの固体又は粉体が化学的には同一物質であっても、それらの固体構造が違えば、異なる密度を与える。固体又は粉体粒子の密度は、粉末状医薬品及び医薬品原料の重要な物理的特性であることから、日本薬局方では、粒子密度は「3.03 粉体の粒子密度測定法」、かさ密度は「3.01 かさ密度測定法」として、それぞれの密度測定法を規定している。</p> <p>固体又は粉体の密度は、単位体積当たりの質量(kg/m³)であり、通例、g/cm³で表す(1 g/cm³=1000 kg/m³)。</p> <p>結晶密度(Crystal Density)</p> <p>ある物質の結晶密度とは、分子の充填配列(molecular packing arrangement)の基本部分(fundamental part)に属さない、全ての空隙を除いた単位体積当たりの平均質量である。これはその物質の特定の結晶構造に固有な特性であり、測定法に依存しない。結晶密度は、計算又は簡単な測定によって求めることができる。</p> <p>A. 計算による結晶密度は、例えば、単結晶のX線回折データ又は粉末X線回折データの指標化によって得られる結晶学的データ(単位格子の体積と組成)から与えられる。</p> <p>B. 測定による結晶密度は、単結晶の質量と体積の測定により、その比(質量/体積)として与えられる。</p> <p>粒子密度(Particle Density)</p> <p>粒子密度は、結晶密度に加えて粒子内の空隙(粒子内部の閉じた空隙及び開口部はあるが気体が浸入できない空</p>	<p>固体又は粉体の密度 (G2-1-171)</p> <p>集合体としての固体又は粉体の密度は、粒子間及び粒子内部に存在する微細な空隙部分の体積の評価方法により、異なる定義がなされ、それぞれ異なる数値が与えられ、かつ実用上の意味も異なる。通常、固体又は粉体の密度は三つのレベルで定義される。</p> <p>(1) 結晶密度 空隙のない均一系とみなされ、真密度とも称される。</p> <p>(2) 粒子密度 開口部のない空隙、又は気体により置換されない粒子内細孔も固体又は粉体の体積として評価される。</p> <p>(3) かさ密度 粉体層内に形成される空隙部分も固体又は粉体の体積として評価されることから、みかけ密度とも称される。通常、疎充填時の粉体の密度をかさ密度、タップ充填時の密度をタップ密度と定義される。</p> <p>一般に、液体や気体の密度は温度と圧力のみ依存するが、固体又は粉体の密度は分子又は粒子の集合状態に依存する。したがって、固体又は粉体の密度は、当該物質の結晶構造、結晶化度によって変化することはもちろんであるが、試料が非晶質であるか、その一部が非晶質である場合、試料の調製法又は処理法によって変化する。したがって、二つの固体又は粉体が化学的には同一物質であっても、それらの固体構造が違えば、異なる密度を与える。固体又は粉体粒子の密度は、粉末状医薬品及び医薬品原料の重要な物理的特性であることから、日本薬局方では、粒子密度は「粉体の粒子密度測定法」、かさ密度は「かさ密度及びタップ密度測定法」として、それぞれの密度測定法を規定している。</p> <p>固体又は粉体の密度は、単位体積当たりの質量(kg/m³)であり、通例、g/cm³で表す(1 g/cm³=1000 kg/m³)。</p> <p>結晶密度(Crystal Density)</p> <p>ある物質の結晶密度とは、分子の充填配列(molecular packing arrangement)の基本部分(fundamental part)に属さない、全ての空隙を除いた単位体積当たりの平均質量である。これはその物質の特定の結晶構造に固有な特性であり、測定法に依存しない。結晶密度は、計算又は簡単な測定によって求めることができる。</p> <p>A. 計算による結晶密度は、以下の方法によって求められる。</p> <p>①—例えば、単結晶のX線回折データ又は粉末X線回折データの指標化によって得られる結晶学的データ(体積と単位格子の組成)</p> <p>②—当該物質の分子量</p> <p>B. 測定による結晶密度は、単結晶の質量と体積の測定により、その比(質量/体積)として与えられる。</p> <p>粒子密度(Particle Density)</p> <p>粒子密度は、結晶密度に加えて粒子内の空隙(粒子内部の閉じた空隙、及び開口部はあるが気体が浸入できない空</p>	<p>日米欧三薬局方で改正が合意された試験法である「3.01 かさ密度測定法」と、参考情報「粉体の流動性 (G2-3-182)」にて、かさ密度の用語の定義が改正されたことを踏まえ用語の修正を行う。</p>

新	旧	備考
<p>隙)も粒子体積の一部と評価して求められる密度である。すなわち、粒子密度は測定された体積に依存し、体積の評価は測定法に依存する。粒子密度の測定は、日本薬局方では「<u>3.03 粉体の粒子密度測定法</u>」として、ピクノメーター法を規定している。</p> <p>ピクノメーター法による密度は、気体置換型ピクノメーターを用いて、質量既知の粉体の体積を置換された気体の体積に等しいものと評価することにより求める。ピクノメーター法による密度の測定においては、気体の浸入が可能な開孔部のある空隙は粉体の体積とみなされないが、気体が浸入できない密閉状態にある空隙は粉体の体積の一部とみなされる。ヘリウムは拡散性が高く、開孔部のあるほとんどの空隙に浸入できるため、粒子密度測定用気体として推奨される。したがって、細かく粉碎された粉体のピクノメーター法による粒子密度は、一般には結晶密度とあまり変わらない。このため、この方法による粒子密度は、非晶質又は部分的に結晶性である試料の真密度の最良の推定値とみなされ、製造工程中にある医薬品粉末の製造管理に広く役立てることができる。</p> <p>かさ密度 (Bulk Density)</p> <p>粉体のかさ密度は、粒子間の空隙も粉体体積の一部と評価して求められる。したがって、かさ密度は粉体の粒子密度と粉体層中での粒子の空間配列に依存する。</p> <p>また、粉体のかさ密度は粉体層の僅かな揺動によっても、その空間配列が変化するため、再現性よくかさ密度を測定することは極めて難しい。したがって、かさ密度の測定値を示す場合、<u>測定条件と共に</u>、どのように測定したかを明記することが重要である。</p> <p>日本薬局方では「<u>3.01 かさ密度測定法</u>」を規定している。</p> <p>A. <u>疎充填</u>かさ密度は、ふるいを通してメスシリンダー中へ注入した質量既知の粉体の体積(<u>疎充填体積</u>)を測定することにより求められる(定質量法)。別に日本薬局方では、一定容量(<u>疎充填体積</u>)の粉体の質量を測定することにより、<u>疎充填</u>かさ密度を求める方法(定容量法)も規定している。</p> <p>B. <u>タップ充填</u>かさ密度は、粉体を入れたメスシリンダーを機械的にタップすることにより求められる。初期の<u>疎充填体積</u>を測定した後、メスシリンダーを一定の測定条件(<u>タップ速度及び落下高さ</u>)で機械的に<u>規定の回数</u>タップし、連続する<u>2回</u>の測定間で体積変化が許容範囲内となるまで測定を繰り返す(定質量法)。別に日本薬局方では、<u>タップ充填</u>された一定容量の粉体の質量を測定することにより、<u>タップ充填</u>かさ密度を求める方法(定容量法)も規定している。</p>	<p>隙)も粒子体積の一部と評価して求められる密度である。すなわち、粒子密度は測定された体積に依存するが、体積の評価は測定法に依存する。粒子密度の測定は、日本薬局方では「<u>粉体の粒子密度測定法</u>」として、ピクノメーター法を規定している。</p> <p>ピクノメーター法による密度は、気体置換型ピクノメーターを用いて、質量既知の粉体の体積を置換された気体の体積に等しいものと評価することにより求める。ピクノメーター法による密度の測定においては、気体の浸入が可能な開孔部のある空隙は粉体の体積とみなされないが、気体が浸入できない密閉状態にある空隙は粉体の体積の一部とみなされる。ヘリウムは拡散性が高く、開孔部のあるほとんどの空隙に浸入できるため、粒子密度測定用気体として推奨される。したがって、細かく粉碎された粉体のピクノメーター法による粒子密度は、一般には結晶密度とあまり変わらない。このため、この方法による粒子密度は、非晶質又は部分的に結晶性である試料の真密度の最良の推定値とみなされ、製造工程中にある医薬品粉末の製造管理に広く役立てることができる。</p> <p>かさ密度及びタップ密度 (Bulk Density—and Tapped Density)</p> <p>粉体のかさ密度は、粒子間の空隙も粉体体積の一部と評価して求められる。したがって、かさ密度は粉体の粒子密度と粉体層中での粒子の空間配列に依存する。また、粉体のかさ密度は粉体層の僅かな揺動によっても、その空間配列が変化するため、再現性よくかさ密度を測定することは極めて難しい。したがって、かさ密度の測定値を示す場合、どのようにして測定したか、その測定条件を明記することが重要である。</p> <p>日本薬局方では「<u>かさ密度及びタップ密度測定法</u>」を規定している。</p> <p>A. かさ密度は、ふるいを通してメスシリンダー中へ注入した質量既知の粉体の体積(<u>かさ体積</u>)を測定することにより求められる(定質量法)。別に日本薬局方では、一定容量(<u>かさ体積</u>)の粉体の質量を測定することにより、かさ密度を求める方法(定容量法)も規定している。</p> <p>B. <u>タップ密度</u>は、粉体試料を入れた測定用メスシリンダーを機械的にタップすることにより求められる。初期の<u>かさ体積</u>を測定した後、メスシリンダーを一定の測定条件(<u>タップ速度及び落下高さ</u>)の下で機械的にタップし、連続する<u>二つ</u>の測定間での体積変化が許容範囲内となるまで測定を繰り返す(定質量法)。別に日本薬局方では、<u>タップ充填</u>された一定容量(<u>かさ体積</u>)の粉体の質量を測定することにより、<u>タップ密度</u>を求める方法(定容量法)も規定している。</p>	

G2. 粉体の流動性 〈G2-3-182〉

新	旧	備考
<p>粉体の流動性 〈G2-3-182〉</p> <p>本試験法は、三薬局方での調和合意に基づき規定した試験法である。</p>	<p>粉体の流動性 〈G2-3-171〉</p> <p>本試験法は、三薬局方での調和合意に基づき規定した試験法である。</p>	<p>日米欧三薬局方で改正が合意された内容を反映し、か</p>

新	旧	備考
<p>三薬局方の調和合意に関する情報については、独立行政法人医薬品医療機器総合機構のウェブサイトに掲載している。</p> <p>医薬品では幅広く粉体が利用されることから、粉体の流動性を評価するための種々の方法が考案されてきた。製剤に関する文献中には、粉体の流動性に関する種々の測定値を製造特性と関係づけようとする多数の論文が出されている。このような種々の試験法が開発されているのは当然である。なぜならば、粉体の挙動は多面的であるので、これが粉体の流動性を評価しようとする努力を面倒にしているからである。本項では、<u>医薬品に最も多く用いられる粉体の流動性の評価法について記述</u>する。医薬品粉体の流動性を適切に評価できる単純で簡便な測定法はないが、本項では、幾つかの試験法の標準化を提案している。粉体の流動性評価に広く用いられている四つの試験項目及び測定法、すなわち、「1.安息角」、「2.圧縮度又はHausner比」、「3.オリフィスからの流出」、及び「4.せん断セル法」である。</p> <p>一般に、いかなる粉体の流動性測定法であっても、実用的かつ有用であり、更に再現性がある感度が良く、意味のある結果が得られなければならない。これらいずれの手法を用いた測定でも、複数回の測定が望ましい。繰返しになるが、ある一つの流動性測定法では、<u>製薬用途で遭遇する広範囲な流動性を適切に又は完全に評価できない</u>。製剤研究者や技術者の必要性に応じて、種々の見地から粉体の流動性を評価するために、多数の標準化された試験法をうまく利用することが適切な評価につながる。</p> <p>1. 安息角</p> <p>安息角は、粉体の流動性を評価するために幾つかの科学分野で用いられてきている。安息角は、粒子間摩擦、又は粒子間の運動に対する抵抗性に関する特性値である。安息角の試験結果は、測定法に大きく依存する。本測定法では円錐形成時の粉体の分離・偏析や圧密又はエアレーションのために、実験上に困難を生じる。これらの難点があるにもかかわらず、本測定法は製薬工業において利用され続けており、製造面での諸問題を予測する際の価値を示す多数の例が文献中に見られる。</p> <p>安息角は、次項で述べる方法のいかににかかわらず、形成される堆積体が円錐状であると仮定した際の水平面に対する三次元的角度である。</p> <p>1.1. 安息角測定法</p> <p>多数の安息角測定法が提案されているが、静的安息角を測定するための最も一般的な方法は、二つの重要な実験的変数の扱いにより次のように分類される。</p> <p>(i) 粉体を流下させる漏斗の高さを基底板に対して固定しておくか、又は堆積体が形成されるにつれて漏斗の高さを変える。</p> <p>(ii) 堆積体が形成される基底板の直径を一定とする(すなわち、堆積体の直径は既知である)か、又は堆積体の形</p>	<p>三薬局方の調和合意に関する情報については、独立行政法人医薬品医療機器総合機構のウェブサイトに掲載している。</p> <p>製薬工業における粉体の広範囲な利用によって、粉体の流動性を評価するための種々の方法が考案されてきた。製剤に関する文献中には、粉体の流動性に関する種々の測定値を製造特性と関係づけようとする多数の論文が出されている。このような種々の試験法が開発されているのは当然である。なぜならば、粉体の挙動は多面的であるので、これが粉体の流動性を評価しようとする努力を面倒にしているからである。本項では、<u>文献中で最も多く報告されている粉体の流動性の評価法について概説</u>する。医薬品粉体の流動性を適切に評価できる単純で簡便な測定法はないが、本項では製剤開発の過程で有用であると思われる幾つかの試験法の標準化について述べる。</p> <p>粉体の流動性を評価するために、<u>一般には四つの測定法又は試験法、すなわち、「1.安息角測定法」、「2.圧縮度又はHausner比測定法」、「3.オリフィスからの流出速度測定法」、及び「4.せん断セル法」が汎用されている。また、これらの基本的測定法の各々について多数の変法が用いられているので、これらの試験法や変法の標準化が可能であれば好都合である。</u></p> <p>この目標を意識しながら、以下に最もよく用いられている方法について述べる。実験的に考慮すべき重要な事項は同じであるので、測定法の標準化を推奨する。一般に、いかなる粉体の流動性測定法であっても、実用的かつ有用であり、更に再現性がある感度が良く、意味のある結果が得られなければならない。しかしながら、ある一つの簡便な流動性測定法が広範囲な流動性を適切に又は完全に評価できるというものではない。製剤研究者や技術者の必要性に応じて、種々の見地から粉体の流動性を評価するために、多数の標準化された試験法をうまく利用することが適切な評価につながる。</p> <p>1. 安息角測定法</p> <p>安息角は、粉体の流動性を評価するために幾つかの科学分野で用いられてきている。安息角は、粒子間摩擦、又は粒子間の運動に対する抵抗性に関する特性値である。安息角の試験結果は、測定法に大きく依存する。本測定法では円錐形成時の試料の分離・偏析や、<u>粉体の圧密又はエアレーションのために、実験上に困難を生じる。これらの難点があるにもかかわらず、本測定法は製薬工業において利用され続けており、製造面での諸問題を予測する際の価値を示す多数の例が文献中に見られる。</u></p> <p>安息角は、次項で述べる方法のいかににかかわらず、形成される堆積体が円錐状であると仮定した際の水平面に対する三次元的角度である。</p> <p>1.1. 基本的測定法</p> <p>多数の安息角測定法が提案されているが、静的安息角を測定するための最も一般的な方法は、二つの重要な実験的変数の扱いにより次のように分類される。</p> <p>(i) 粉体を流下させる漏斗の高さを基底板に対して固定しておくか、又は堆積体が形成されるにつれて漏斗の高さを変える。</p> <p>(ii) 堆積体が形成される基底板の直径を一定とする(すなわち、堆積体の直径は既知である)か、又は堆積体の形</p>	<p>さ密度の用語の定義を見直すとともに、全般的な用語の整備等を行う。</p>

新	旧	備考																																								
<p>成に応じて基板の直径を変える。</p> <p>上記の基本的な測定法に加えて、以下のような変法も用いられている。</p> <p>(i) 排出安息角：一定の直径を持つ円板上にある過剰量の粉体を容器から排出させることによって測定する。円板上に形成された円錐から、排出安息角を測定する。</p> <p>(ii) 動的安息角：片面が透明で平らな面を持つ円筒内に粉体を入れ、これを一定速度で回転させる。動的安息角は円筒内で流動している粉体層の斜面が水平面との間で形成する角度として測定される。内部運動摩擦角は粉体の最上層を流下する粒子と粗い表面仕上げとされている円筒と一緒に回転している粒子を分離している面によって定義される。</p> <p>1.2. 安息角に関する流動性の程度</p> <p>安息角を用いて粉体の流動性を定性的に説明する際に多少の違いはあるが、Carr¹⁾による分類(表1)は有用である。処方設計において40～50°の安息角を持つ試料であっても良好な結果が得られることもあるが、安息角が50°を超えると、製造に適さないことが多い。</p> <p>表1 流動性の程度と対応する安息角¹⁾</p> <table border="1" data-bbox="172 943 627 1167"> <thead> <tr> <th>流動性の程度</th> <th>安息角(°)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>極めて良好</td> <td>25～30</td> </tr> <tr> <td>良好</td> <td>31～35</td> </tr> <tr> <td>やや良好(架橋防止対策不要)</td> <td>36～40</td> </tr> <tr> <td>普通(架橋の限界点あり)</td> <td>41～45</td> </tr> <tr> <td>やや不良(攪拌や振とうが必要)</td> <td>46～55</td> </tr> <tr> <td>不良</td> <td>56～65</td> </tr> <tr> <td>極めて不良</td> <td>>66</td> </tr> </tbody> </table> <p>1.3. 測定に関して留意すべき点</p> <p>(略)</p> <p>1.4. 推奨される測定手順</p> <p>(略)</p> <p>2. 圧縮度及びHausner比</p> <p>圧縮度とこれに密接に関係するHausner比は、粉体の粒子サイズや粒子形状、真密度、表面積、含水率、付着性などに影響されるため、粉体の流動特性を予測することができる。圧縮度及びHausner比は、粉体の疎充填体積とタップ充填体積から算出される。詳細はかさ密度測定法(3.0)を参照すること。</p> <p>2.1. 圧縮度及びHausner比測定法</p> <p>圧縮度とHausner比の測定法はやや異なるが、基本的な手順は、同一の粉体試料について疎充填体積V_0と、これ以上の体積変化が生じなくなるまで試料をタップした後の最終タップ充填体積V_fを測定することである。次式により圧縮度とHausner比を計算する。</p> <p>圧縮度$= (V_0 - V_f) / V_0 \times 100$ Hausner比$= V_0 / V_f$</p> <p>圧縮度とHausner比は、疎充填かさ密度($\rho_{untapped}$)とタップ充填かさ密度(ρ_{tapped})の測定値を用いて、次式により求</p>	流動性の程度	安息角(°)	極めて良好	25～30	良好	31～35	やや良好(架橋防止対策不要)	36～40	普通(架橋の限界点あり)	41～45	やや不良(攪拌や振とうが必要)	46～55	不良	56～65	極めて不良	>66	<p>成に応じて基板の直径を変える。</p> <p>1.2. 基本的測定法の変法</p> <p>前項の基本的測定法に加えて、以下のような変法が用いられている。</p> <p>(i) 排出安息角：一定の直径を持つ円板上にある過剰量の試料を容器から排出させることによって測定する。円板上に形成された円錐から、排出安息角を測定する。</p> <p>(ii) 動的安息角：片面が透明で平らな面を持つ円筒内に粉体を入れ、これを一定速度で回転させる。動的安息角は円筒内で流動している粉体層の斜面が水平面との間で形成する角度として測定される。内部運動摩擦角は粉体の最上層を流下する粒子と粗い表面仕上げとされている円筒と一緒に回転している粒子を分離している面によって定義される。</p> <p>1.3. 安息角に関する流動性の一般尺度</p> <p>安息角を用いて粉体の流動性を定性的に説明する際に多少の違いはあるが、Carr¹⁾による分類(表1)は有用である。処方設計において40～50°の安息角を持つ試料であっても良好な結果が得られることもあるが、安息角が50°を超えると、製造に適さないことが多い。</p> <p>表1 流動特性と対応する安息角¹⁾</p> <table border="1" data-bbox="750 943 1225 1167"> <thead> <tr> <th>流動性の程度</th> <th>架橋防止対策</th> <th>安息角(°)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>極めて良好</td> <td></td> <td>25～30</td> </tr> <tr> <td>良好</td> <td></td> <td>31～35</td> </tr> <tr> <td>やや良好</td> <td>不要</td> <td>36～40</td> </tr> <tr> <td>普通</td> <td>限界点架橋あり</td> <td>41～45</td> </tr> <tr> <td>やや不良</td> <td>攪拌や振とうが必要</td> <td>46～55</td> </tr> <tr> <td>不良</td> <td></td> <td>56～65</td> </tr> <tr> <td>極めて不良</td> <td></td> <td>>66</td> </tr> </tbody> </table> <p>1.4. 測定に関して留意すべき点</p> <p>(略)</p> <p>1.5. 推奨される測定手順</p> <p>(略)</p> <p>2. 圧縮度及びHausner比測定法</p> <p>最近、圧縮度(Compressibility Index)とこれに密接に関係するHausner比の測定法が、粉体の流動特性を予測するための簡便で、迅速かつ一般的な方法となってきた。粉体のかさ密度、粒子径や粒子形状、表面積、含水率、付着性の全てが、測定した圧縮度に影響するので、圧縮度はこれらの粉体物性の総合的な尺度とされてきた。圧縮度及びHausner比は、粉体のかさ体積とタップ後のかさ体積を測定することによって求められる。</p> <p>2.1. 基本的測定法</p> <p>圧縮度とHausner比の測定法には幾つかの方法があるが、基本的な手順は、粉体の(1)疎充填時のかさ体積V_0及び(2)これ以上のかさ体積変化が生じなくなるまで試料をタップした後の最終かさ体積V_fを測定することである。圧縮度(%)とHausner比は、次式によって求められる。</p> <p>圧縮度$= (V_0 - V_f) / V_0 \times 100$ Hausner比$= V_0 / V_f$</p> <p>圧縮度(%)とHausner比は、疎充填時のかさ密度(ρ_{bulk})とタップ密度(ρ_{tapped})の測定値を用いて、次式により</p>	流動性の程度	架橋防止対策	安息角(°)	極めて良好		25～30	良好		31～35	やや良好	不要	36～40	普通	限界点架橋あり	41～45	やや不良	攪拌や振とうが必要	46～55	不良		56～65	極めて不良		>66	
流動性の程度	安息角(°)																																									
極めて良好	25～30																																									
良好	31～35																																									
やや良好(架橋防止対策不要)	36～40																																									
普通(架橋の限界点あり)	41～45																																									
やや不良(攪拌や振とうが必要)	46～55																																									
不良	56～65																																									
極めて不良	>66																																									
流動性の程度	架橋防止対策	安息角(°)																																								
極めて良好		25～30																																								
良好		31～35																																								
やや良好	不要	36～40																																								
普通	限界点架橋あり	41～45																																								
やや不良	攪拌や振とうが必要	46～55																																								
不良		56～65																																								
極めて不良		>66																																								

新	旧	備考																																																
<p>めることもできる。</p> <p>圧縮度$=(\rho_{\text{tapped}} - \rho_{\text{untapped}}) / \rho_{\text{tapped}} \times 100$ Hausner比$=\rho_{\text{tapped}} / \rho_{\text{untapped}}$</p> <p>これらの変法として、タップ中に生じるかさ体積変化に代わって、圧密率が測定されることもある。圧縮度とHausner比について、広く報告されている流動性の程度を表2に示す。</p> <p>表2 流動性の程度と対応する圧縮度及びHausner比</p> <table border="1" data-bbox="172 546 632 763"> <thead> <tr> <th>圧縮度(%)</th> <th>流動性の程度</th> <th>Hausner比</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>≤10</td><td>極めて良好</td><td>1.00 ~ 1.11</td></tr> <tr><td>11 ~ 15</td><td>良好</td><td>1.12 ~ 1.18</td></tr> <tr><td>16 ~ 20</td><td>やや良好</td><td>1.19 ~ 1.25</td></tr> <tr><td>21 ~ 25</td><td>普通</td><td>1.26 ~ 1.34</td></tr> <tr><td>26 ~ 31</td><td>やや不良</td><td>1.35 ~ 1.45</td></tr> <tr><td>32 ~ 37</td><td>不良</td><td>1.46 ~ 1.59</td></tr> <tr><td>>38</td><td>極めて不良</td><td>>1.60</td></tr> </tbody> </table> <p>圧縮度とHausner比は粉体に固有な特性値ではなく、用いた測定法に依存する。疎充填体積V_0、最終タップ充填体積V_t、疎充填かさ密度ρ_{untapped}、及びタップ充填かさ密度ρ_{tapped}の測定に影響するため考慮すべき重要な点は以下のとおりである。</p> <p>(i) 用いたメスシリンダーとホルダーの直径と質量 (ii) タップ充填かさ密度を得るための粉体のタップ回数 (iii) タップの高さ (iv) 試験に用いた粉体の質量 (v) タップ中のメスシリンダー内における粉体試料の回転</p> <p>3. オリフィスからの流出</p> <p>粉体の流出は多くの因子に依存するが、そのうちの幾つかは粒子自体の特性に関係しており、また他の幾つかは測定法に関係する。粉体の流動度の測定には、(粉体がアーチングを生じ、それ以上流出することができなくなるオリフィス径である“アーチング径”を評価することにより)オリフィスからの粉体の流出性とその流出速度を観測する方法が使用されてきた。ここで特に重要なことは、自由流動性のある粉体であっても脈動型の流動パターンが観察されるので、流出を連続的にモニターすることが有用であるということである。また、容器が空になる際も流出速度の変化が見られる。これまでにオリフィス径、粒子径及び粒子密度に対する流出速度に関する幾つかの実験式が提案されている。粉体のアーチング径の評価は、粉体が凝集性を有する場合も自由流動性を有する場合も適用できるが、オリフィスからの流出速度の測定は、自由流動性を有する粉体のみ適用可能である。</p> <p>オリフィスからの流出速度は、一般には多種類の容器(円筒状容器、ファネル、ホッパー)のいずれにおいても、これらから流出する試料の単位時間当たりの質量として測定される。流出速度の測定は間欠的又は連続的に行う</p>	圧縮度(%)	流動性の程度	Hausner比	≤10	極めて良好	1.00 ~ 1.11	11 ~ 15	良好	1.12 ~ 1.18	16 ~ 20	やや良好	1.19 ~ 1.25	21 ~ 25	普通	1.26 ~ 1.34	26 ~ 31	やや不良	1.35 ~ 1.45	32 ~ 37	不良	1.46 ~ 1.59	>38	極めて不良	>1.60	<p>求めることもできる。</p> <p>圧縮度$=(\rho_{\text{tapped}} - \rho_{\text{bulk}}) / \rho_{\text{tapped}} \times 100$ Hausner比$=\rho_{\text{tapped}} / \rho_{\text{bulk}}$</p> <p>これらの変法として、タップ中に生じるかさ体積変化に代わって、圧密率が測定されることもある。圧縮度(%)とHausner比を用いて、表2に示された流動性の尺度が一般的に認められている。</p> <p>表2 流動性の尺度[†]</p> <table border="1" data-bbox="750 546 1107 763"> <thead> <tr> <th>圧縮度(%)</th> <th>流動性の程度</th> <th>Hausner比</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>≤10</td><td>極めて良好</td><td>1.00 ~ 1.11</td></tr> <tr><td>11 ~ 15</td><td>良好</td><td>1.12 ~ 1.18</td></tr> <tr><td>16 ~ 20</td><td>やや良好</td><td>1.19 ~ 1.25</td></tr> <tr><td>21 ~ 25</td><td>普通</td><td>1.26 ~ 1.34</td></tr> <tr><td>26 ~ 31</td><td>やや不良</td><td>1.35 ~ 1.45</td></tr> <tr><td>32 ~ 37</td><td>不良</td><td>1.46 ~ 1.59</td></tr> <tr><td>>38</td><td>極めて不良</td><td>>1.60</td></tr> </tbody> </table> <p>2.2. 測定に関して留意すべき点</p> <p>圧縮度とHausner比は個々の粉体に固有な特性値ではない。すなわち、これらを用いた測定法に依存する。(1)疎充填時のかさ体積V_0、(2)最終かさ体積V_t、(3)疎充填時のかさ密度ρ_{bulk}、及び(4)タップ密度ρ_{tapped}の測定に影響する、次のような幾つかの重要な点が指摘されている。</p> <p>(i) 用いたメスシリンダーの直径 (ii) タップ密度を得るための粉体のタップ回数 (iii) 試験に用いた粉体の質量 (iv) タップ中のメスシリンダー内における粉体試料の回転</p> <p>2.3. 推奨される測定手順</p> <p>100 gの試料を用いて250 mLのメスシリンダーによって行う。これより少量であってもよいが、用いた試料量及びメスシリンダーの容積を結果と共に記載しておく。3回の測定値の平均を用いることが望ましい。</p> <p>3. オリフィスからの流出速度測定法</p> <p>粉体の流出速度は多くの因子に依存するが、そのうちの幾つかは粒子自体の特性に関係しており、また他の幾つかは測定法に関係する。オリフィスからの粉体の流出速度は、粉体の流動性のより有効な尺度であるとされてきた。ここで特に重要なことは、自由流動性のある試料であっても脈動型の流動パターンが観察されるので、流出を連続的にモニターすることが有用であるということである。また、容器が空になる際も流出速度の変化が見られる。これまでにオリフィス径、粒子径及び粒子密度に対する流出速度に関する幾つかの実験式が提案されているが、オリフィスからの流出速度の測定は、自由流動性のある粉体に関してのみ有用である。</p> <p>オリフィスからの流出速度は、一般には多種類の容器(円筒状容器、ファネル、ホッパー)のいずれにおいても、これらから流出する試料の単位時間当たりの質量として測定される。流出速度の測定は間欠的又は連続的に行うことができる。</p>	圧縮度(%)	流動性の程度	Hausner比	≤10	極めて良好	1.00 ~ 1.11	11 ~ 15	良好	1.12 ~ 1.18	16 ~ 20	やや良好	1.19 ~ 1.25	21 ~ 25	普通	1.26 ~ 1.34	26 ~ 31	やや不良	1.35 ~ 1.45	32 ~ 37	不良	1.46 ~ 1.59	>38	極めて不良	>1.60	
圧縮度(%)	流動性の程度	Hausner比																																																
≤10	極めて良好	1.00 ~ 1.11																																																
11 ~ 15	良好	1.12 ~ 1.18																																																
16 ~ 20	やや良好	1.19 ~ 1.25																																																
21 ~ 25	普通	1.26 ~ 1.34																																																
26 ~ 31	やや不良	1.35 ~ 1.45																																																
32 ~ 37	不良	1.46 ~ 1.59																																																
>38	極めて不良	>1.60																																																
圧縮度(%)	流動性の程度	Hausner比																																																
≤10	極めて良好	1.00 ~ 1.11																																																
11 ~ 15	良好	1.12 ~ 1.18																																																
16 ~ 20	やや良好	1.19 ~ 1.25																																																
21 ~ 25	普通	1.26 ~ 1.34																																																
26 ~ 31	やや不良	1.35 ~ 1.45																																																
32 ~ 37	不良	1.46 ~ 1.59																																																
>38	極めて不良	>1.60																																																

新	旧	備考
<p>ことができる。</p> <p>3.1. オリフィスからの流出試験法 (略)</p> <p>3.2. オリフィスからの流出試験法の変法 質量基準又はかさ体積基準のいずれの流出速度も測定することができる。質量基準速度の方が測定しやすいが、高密度の粉体では大きな測定値が得られる。錠剤機の臼中への粉体の充填はかさ体積基準であるので、この場合にはかさ体積基準の流出速度を測定することが望ましい。容器から粉体が流出しやすくするためにバイブレーターを取り付けることもあるが、これは結果の解析を複雑にする。ロータリー式錠剤機の運転条件をより精密に再現するための振動式オリフィス装置が提案されている。粉体が流出する最小オリフィス径も確認することができる。 流出速度は用いた測定法に極めて大きく依存するので、一般的な尺度はない。また文献の結果を比較することも困難である。</p> <p>3.3. 測定に関して留意すべき点 オリフィスからの流出は、個々の粉体に固有な物性値ではない。これは用いた方法に極めて大きく依存する。これらの方法に影響する、次のような幾つかの重要な点が指摘されている。 (i) オリフィス径と形状 (ii) 容器の材質(金属, ガラス, プラスチック) (iii) 容器内での粉体層の直径と高さ</p> <p>3.4. 推奨される測定手順 (略)</p> <p>4. せん断セル法 より基本的な原理に基づいた粉体の流動性研究やホッパーの設計を進めようとする際、粉体の流動性をより完全かつ正確に定義した評価ができる、種々の粉体せん断試験装置や方法が開発されている。せん断セル法は、医薬品粉体の研究において広範囲に用いられている。本法によれば、粉体層が横滑りし始める直前のせん断応力と垂直応力の関係を表す破壊包絡線、内部摩擦角、非限界降伏力、粉体の凝集、フローファンクションのような種々の関連するパラメーターを含む広範囲なパラメーターが得られる。また、本法では実験上のパラメーターをより正確に制御することができるので、流動特性は圧密荷重、時間、その他の環境条件の関数として測定することもできる。これらの方法を用いることにより、ホッパーや貯槽用容器の限界寸法を適切に求めることができる。</p> <p>4.1. 測定法 せん断セルの第一のタイプは、上下に二分割できる固定セルと可動セルとの境にせん断面を形成させる並進せん断セルに相当する。この方法では、所定の手順に従ってせん断セル内の粉体層を圧密した後、粉体層をせん断するのに要する力を測定する。並進せん断セルは円筒型又は矩形形状の箱型である。 第二のタイプのせん断セルは、回転せん断セルに相当する。これには、円筒型のもので環状型のものがある。これらは、試料量が少なく済むなど、並進せん断セルを上回</p>	<p>3.1. 基本的測定法 (略)</p> <p>3.2. 基本的測定法の変法 質量基準又はかさ体積基準のいずれの流出速度も測定することができる。質量基準速度の方が測定しやすいが、高密度の試料では大きな測定値が得られる。錠剤機の臼中への粉体の充填はかさ体積基準であるので、この場合にはかさ体積基準の流出速度を測定することが望ましい。容器から粉体が流出しやすくするためにバイブレーターを取り付けることもあるが、これは結果の解析を複雑にする。ロータリー式錠剤機の運転条件をより精密に再現するための振動式オリフィス装置が提案されている。粉体が流出する最小オリフィス径も確認することができる。</p> <p>3.3. オリフィスからの流出速度に関する流動性の一般尺度 流出速度は用いた測定法に極めて大きく依存するので、一般的な尺度はない。また文献の結果を比較することも困難である。</p> <p>3.4. 測定に関して留意すべき点 オリフィスからの流出速度は、個々の粉体に固有な物性値ではない。これは用いた方法に極めて大きく依存する。これらの方法に影響する、次のような幾つかの重要な点が指摘されている。 (i) オリフィス径と形状 (ii) 容器の材質(金属, ガラス, プラスチック) (iii) 容器内での粉体層の直径と高さ</p> <p>3.5. 推奨される測定手順 (略)</p> <p>4. せん断セル法 より基本的な原理に基づいた粉体の流動性研究やホッパーの設計を進めようとする努力の中で、粉体の流動性をより完全かつ正確に定義した評価ができる、種々の粉体せん断試験器や方法が開発されている。せん断セル法は医薬品粉体の研究において広範囲に用いられている。本法によれば、せん断応力—せん断ひずみの関係を表す破壊包絡線、内部摩擦角、非限界降伏力、引張り強度、フロー・ファクターや、その他の流動性指数のような種々の2次的パラメーターを含む広範囲なパラメーターが得られる。また、本法では実験上のパラメーターをより正確に制御することができるので、流動特性は圧密荷重、時間、その他の環境条件の関数として測定することもできる。これらの方法は、限界応力状態にあるホッパーや貯槽用容器のパラメーターを測定するのにうまく利用されている。</p> <p>4.1. 基本的測定法 せん断セルの第一のタイプは、せん断セルリングの下部の固定部分と上部の可動部分との間でせん断面を形成させ、水平方向に引張り破断する円筒型せん断セルである。この方法では、所定の手順に従ってせん断セル内の粉体層を圧密した後、上部リングを移動させることによって粉体層をせん断するのに要する力を測定する。一方、第二のタイプである回転型せん断セルは試料量が少なく済むなど、円筒型せん断セルを上回る幾つかの利点がある。しかし、設計上、リングの内壁面近くにある試料の方がそ</p>	

新	旧	備考
<p>る幾つかの利点がある。しかし、設計上、<u>回転せん断セルの周囲に近い試料の方が</u>、より内側にある試料より多くせん断されるので、粉体層が均一にせん断されないという欠点がある。</p> <p>いずれのせん断セル法も利点と欠点を持っているが、詳細については本項では触れない。粉体の流動性を評価する他の方法については、文献中で多くの変法が述べられている。一般にせん断セル法の大きな利点は、実験的により制御しやすいことである。</p> <p>(略)</p>	<p>れより内側の部分にある試料より多くせん断されるので、粉体層が均一にせん断されないという欠点がある。第三のタイプのせん断セル(平行平板型)は、下部の固定した粗な面と上部の粗な可動面との間で薄いサンドイッチ状の粉体層を形成している。</p> <p>いずれのせん断セル法も利点と欠点を持っているが、詳細については本項では触れない。粉体の流動性を評価する他の方法については、文献中で多くの変法が述べられている。一般にせん断セル法の大きな利点は、実験的により制御しやすいことである。しかし、本法は一般に測定に際して長時間を要し、また多量の試料と熟練が必要である。</p> <p>(略)</p>	

※ 上記以外の記載上の整備については新旧対照表中には提示していない。

以下については、改正に際し記載が大幅に見直されたため、新旧対照表中には提示していない。

G3. ペプチドマップ法 (G3-3-182)

G5. 日本薬局方収載生薬の学名表記について (G5-1-182)

G5. 生薬及び生薬製剤の薄層クロマトグラフィー (G5-3-182)

資料No. 2 - 1

参考情報改正（案）

令和6年1月22日
日本薬局方部会

目 次

参考情報(案)

G1. 理化学試験関連

原子間力顕微鏡によるナノ粒子のサイズ及び形態解析法〈G1-9-182〉	1
日本薬局方における秤量の考え方〈G1-6-182〉	3
はかり(天秤)の校正、点検と分銅〈G1-7-182〉	5
はかり(天秤)の設置環境、基本的な取扱い方法と秤量時の留意点〈G1-8-182〉	5

G2. 物性関連

固体又は粉体の密度〈G2-1-182〉	6
粉体の流動性〈G2-3-182〉	7
動的光散乱法による液体中の粒子径測定法〈G2-4-182〉	10

G3. 生物薬品関連

ペプチドマップ法〈G3-3-182〉	10
フローサイトメトリー〈G3-16-182〉	15
フローイメージング法によるバイオテクノロジー応用医薬品(バイオ医薬品)原薬/製剤中の不溶性微粒子の評価法〈G3-17-182〉	18

G5. 生薬関連

日本薬局方収載生薬の学名表記について〈G5-1-182〉	20
生薬及び生薬製剤の薄層クロマトグラフィー〈G5-3-182〉	29

1 参考情報 改正事項

2 参考情報 G1. 理化学試験関連 に原子間力顕微鏡による
3 ナノ粒子のサイズ及び形態解析法, 日本薬局方における秤量の
4 考え方, はかり(天秤)の校正, 点検と分銅, 並びにはかり(天
5 秤)の設置環境, 基本的な取扱い方法と秤量時の留意点 を加
6 える.

7 原子間力顕微鏡によるナノ粒子のサイズ及び 8 形態解析法〈G1-9-182〉

9 原子間力顕微鏡法(AFM: Atomic Force Microscopy)は, カ
10 ンチレバーに装着されたナノメートルオーダーの曲率半径を有
11 つ微小な探針(図1)と試料表面の原子間に働く力を検出するこ
12 とでナノ粒子の画像を取得し, そのサイズや形態, 表面形状を
13 解析する分析手法である. 大気中及び液中で実施することが可
14 能である. また, ナノ粒子の剛性などの力学的特性を測定する
15 ことも可能である. AFMはナノテクノロジーを応用した医薬
16 品の特性解析に利用されている.

17 1. 装置及び動作原理

18 1.1. AFM装置

19 AFMは, 半導体レーザー, AFMヘッド(カンチレバーが装着
20 される機器の構成部分), 探針の付いたカンチレバー, 試料ス
21 テージ, 分割フォトダイオード受光部などから構成され, カン
22 チレバーに照射するレーザーのアラインメントを適切に実施で
23 きるよう, 光学顕微鏡及び荷電結合素子(Charge Coupled
24 Device: CCD)カメラを搭載したものをを用いる(図1). この
25 AFMシステムは除振台上に設置し, 測定に影響を及ぼす振動を
26 防止する.

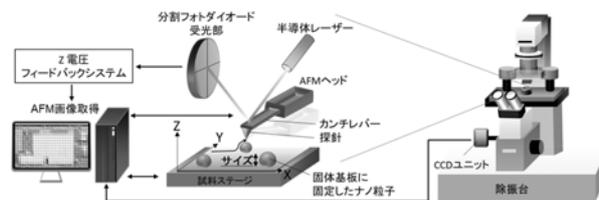
27 1.2. AFM動作原理

28 AFMの動作原理の一般的な概要は以下のとおりである(図1).

- 29 1) 半導体レーザーがカンチレバーの背面に照射され, 反射さ
30 れたレーザー光は分割フォトダイオード受光部で常にモニ
31 ターされている.
- 32 2) カンチレバーが試料の表面近傍に近づくと, 表面間力(引
33 力又は斥力)により生じる曲げモーメントに応じてカンチ
34 レバーがたわむ. このたわみは分割フォトダイオード受光
35 部におけるレーザー検出位置の上下変位として計測される.
- 36 3) カンチレバーのたわみが一定となるように, 試料ステージ
37 又はAFMヘッドに付随しているピエゾ駆動装置によって
38 カンチレバー-試料表面間の z 軸方向での距離を制御しな
39 がら, 試料の x, y 方向に対してカンチレバーが走査される.

40 以上の1) ~ 3)の動作原理に基づき, ピクセルごとに高さ情
41 報が保存されたAFM画像が得られる. 実際の画像取得では,
42 測定対象のナノ粒子は平らな固体基板上に固定されており, 粒
43 子の高さは基板表面から測定された値になる. ナノ粒子のサイ
44 ズ測定において, 対象粒子が球状であると仮定すると, AFM
45 で測定される高さは, 粒子の直径に相当することになる. さ
46 らに校正用標準試料を利用することにより, AFM画像における z
47 軸方向の高さ情報は高い真度と精度を有する. 一方, AFM画

48 像の側方次元(x, y)情報は, 校正の困難さや探針の形状による
49 影響を考慮する必要がある.



50 図1 代表的な原子間力顕微鏡システムと画像取得用PCの概略
51 図¹⁾
52

53 1.3. その他の装置

54 防音ボックス: 外部音による振動の影響を避けるために, 原
55 子間力顕微鏡システムを収容する防音ボックスを利用する場合
56 がある.

57 UV照射洗浄装置: カンチレバーを洗浄する場合に利用でき
58 る.

59 温度制御装置: 温度を一定に保つ必要がある試料測定に利用
60 できる.

61 2. 測定

62 AFMによるナノ粒子のサイズ測定は, 一般に以下の手順で
63 実施される.

64 2.1. 測定試料の調製

65 測定対象のナノ粒子を適当な溶媒に適切な濃度となるように
66 分散させた試料を調製する. 溶媒・濃度はナノ粒子が安定に分
67 散状態を保持するよう設定する.

68 2.2. ナノ粒子を固定するための基板の準備

69 AFMにより画像を取得する上で, 観察対象試料の固体基板
70 への固定は必須である. 観察対象試料の物理的・化学的特性によ
71 り適切な基板を選択することは, 観測粒子数や形態など, 最適
72 な条件を検討する際の重要な要素である.

73 高さ測定において安定したベースラインを確保するために,
74 基板の表面粗さは測定対象の粒子に比較して十分に平らでな
75 ければならない. 測定対象の粒子サイズの5%以下の表面粗さ(表
76 面の凹凸について, 中心線からの偏差の絶対値平均である算術
77 平均粗さ)であることが望ましい. また, ナノ粒子を容易に固
78 定するために基板表面の物性が比較的均一であることが重要で
79 ある.

80 一般に, 安定に分散しているナノ粒子の表面は正又は負に帯
81 電しており, それら粒子の固体基板への固定は, 静電的相互作
82 用によることが多い. 例えば, 負荷電のポリスチレン標準ナノ
83 粒子は, 正に帯電した固体基板表面へ容易に固定できる. 粒子
84 と基板間の表面間力がファンデルワールス相互作用や疎水性相
85 互作用に依存する, 固定する対象粒子が柔らかく基板との相互
86 作用により変形・崩壊が生じるなど, 特に相互作用が複雑にな
87 る場合には, 固体基板の選択に多くの検討が必要になる. 代表
88 的な基板として, 市販されているAFM測定用の高品質マイカ
89 (muscovite mica), 金(111)蒸着マイカ, 単結晶性シリコンな
90 どが挙げられる. これらの基板は原子レベルで平坦であり, 基
91 板表面の荷電状態を制御するための表面処理が可能である. 例
92 えば, 負に帯電したナノ粒子を固定する場合には, 0.3 vol%
93 の3-アミノプロピルトリエトキシシラン(3-aminopropyltriethoxysilane, APTES)水溶液で正に帯電する
94

1 ように表面処理を行うことが可能である。その他、表面粗さが
2 約5 nm以下の比較的平坦なカバーガラスが市販されており、
3 測定対象の粒子サイズが約100 nm以上の場合には基板として
4 用いることができる。使用する基板の表面粗さを把握するため
5 に、あらかじめAFMにより画像を取得しておくことが望まし
6 い。

7 2.3. ナノ粒子の固体基板への固定

8 適切な基板にナノ粒子の液体試料を滴下し、粒子が基板に固
9 定されるのに十分な時間、インキュベーションを行う。空气中
10 で画像の取得を行う場合には、インキュベーション後に基板を
11 超純水でリンスして塩などの余分な成分を除き乾燥させる。

12 2.4. AFM画像の取得

13 2.4.1. 測定モードの選択

14 ナノ粒子は、静電的相互作用やファンデルワールス相互作用
15 などの弱い分子間相互作用により基板に固定されている。その
16 ため、AFMの測定モードによって側方次元にかかる力を最小
17 限に抑えることが重要である。この要件に適した測定モードの
18 一つに、インターミッテントコンタクトモード(ダイナミック
19 モード、タッピングモード、ダイナミックフォースモード、振
20 幅変調モードとも呼ばれる)が挙げられ、市販されているほと
21 んどのAFMで利用可能である。一方、近年、カンチレバーを
22 加振しない非共振の測定モード(フォースカーブマッピング)が、
23 特に柔らかい試料の観察や力学的特性(硬さなど)の測定に用い
24 られることもある。

25 インターミッテントコンタクトモードでは、カンチレバーホル
26 ダーに取り付けられた小さなピエゾ素子によってカンチレバー
27 を共振周波数付近の振動数で上下に振動させる。振動振幅は、
28 探針-試料間距離に極めて敏感であり、探針が試料表面に接触
29 すると、カンチレバーの運動エネルギーは試料側に散逸し、急
30 激に振動振幅が小さくなる。この振動振幅が一定になるように
31 探針-試料間距離をフィードバック制御しながら絶えず上下振
32 動させて試料中の粒子表面を走査するために、側方次元にかか
33 る力がほとんど生じないという利点がある。そのため、動きや
34 すい試料、凹凸のある試料、柔らかな試料、表面への吸着があ
35 る試料などにも有効な測定モードである。ナノ粒子のサイズ測
36 定は、空气中及び液中のいずれの環境でもインターミッテント
37 コンタクトモードによって可能である。以降は、インターミッ
38 テントコンタクトモードによる画像取得方法を述べる。

39 2.4.2. カンチレバーの選択

40 カンチレバー及びその先端に取り付けられている探針の特性
41 及び形状は、AFMの感度と解像度を決定する重要な因子であ
42 る。留意すべき点を以下に挙げる。

43 AFMで得られる画像には、探針形状と試料粒子形状の両者
44 に由来する要因が含まれる。つまり、探針の形状は高さ測定に
45 影響を与えないが、 x 、 y 方向での形状表示に影響を与えるため、
46 ナノ粒子の x 、 y 方向でのサイズ情報の扱いには注意が必要であ
47 り、探針形状によるアーチファクトを最小化するために、10
48 nm以下の先端半径をもった探針の使用が推奨される。

49 安定したカンチレバーの励起振動は、インターミッテントコ
50 ンタクトモードによる試料表面の画像化に重要な要素であり、
51 探針-試料粒子間の付着力(例えば、毛管力、ファンデルワール
52 ス力、静電力)を克服することができる大きな剛性(高いバネ
53 定数)をもつカンチレバーの使用が望ましい。一方で、カンチ
54 レバーの接触による力で粒子が変形する可能性があるため、測

55 定対象粒子の剛性に比較して小さい剛性(低いバネ定数)のカ
56 ンチレバーを用いることが望ましい。共振周波数の高いカンチレ
57 バーを使用すると、走査の感度が良くなり測定時間を短縮でき
58 るが、通常その剛性(バネ定数)は大きいために測定対象粒子へ
59 のダメージに留意が必要である。また、大気中観察及び液中観
60 察で、カンチレバー剛性の使い分けが必要なことがある。これ
61 らの点を考慮して、カンチレバーの選択を行い、必要に応じて
62 カンチレバーの最適化を行う。

63 2.4.3. AFM画像の取得

64 調製した試料をAFMの試料ステージにセットし、AFM画像
65 を取得する。AFM画像は x 、 y 平面座標と垂直 z 座標の情報を持
66 つ。画像の取得及び解析の際には、 x 、 y 平面のデータポイント
67 数、すなわちピクセル数を考慮する必要がある。例えば、一辺
68 200ピクセルの10 μm \times 10 μm 画像を得た場合、1ピクセル当
69 たりりのサイズは50 nm \times 50 nmとなる。この設定条件では、
70 50 nm以下の粒子を識別することができない。したがって、測
71 定対象の物質のサイズを考慮してスキャンサイズを設定する。
72 測定の際、一般的には1粒子当たり10ピクセル以上となるよう
73 にスキャンサイズを設定することが望ましい。AFMによる粒
74 子の平均サイズと粒度分布の解析では、代表的な粒子を無作為
75 に抽出していることを保証することが重要になる。一般的に、
76 少なくとも100個程度のナノ粒子のサイズを測定することや、
77 また、単一の視野での測定の作為性を避けるために、視野を変
78 えて画像を取得することが推奨される。画像取得中に画像の質
79 が突然悪くなった場合には、カンチレバーが汚染されたり磨耗
80 したりしていることが原因であることが多いので、カンチレバ
81 ーを洗浄又は交換することを検討する。

82 ナノ粒子を固定していない基板を用意し、同じ条件でAFM
83 画像の取得を行う。これにより、測定対象とするナノ粒子と誤
84 って判断してしまう可能性のあるアーチファクト又は異物が、
85 計測作業や基板そのものから混入していないことを保証するこ
86 とができる。

87 3. 画像解析とナノ粒子のサイズ(高さ)計測

88 取得したAFM画像は、AFM機器メーカーにより提供されて
89 いるソフトウェアを用いて、試料の設置や装置の熱ドリフトな
90 どに由来する画像上の高さの傾きを補正した後、解析を行う
91 (他の開発者によるAFM画像解析ソフトウェアも利用可能であ
92 る)。ナノ粒子のサイズ測定において、必須となるデータ解析
93 の操作について述べる。

94 3.1. 断面形状解析によるサイズ測定

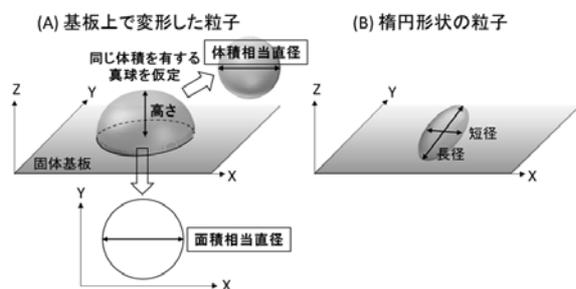
95 ソフトウェアの断面形状解析ツールを用いると、画像中の任
96 意の部分に引いた線に沿った垂直方向の断面形状プロファイル
97 を取得することができ、水平・垂直方向の距離の測定が可能で
98 ある。断面形状プロファイルを取得すれば、ナノ粒子の高さだ
99 けでなく、ナノ粒子の凝集性も知ることができる。また、ナノ
100 粒子周辺の基板部分における傾き補正の適切性に関する情報を
101 得ることができる。画像中の各ナノ粒子について断面形状解析
102 を行い、粒子の高さを測定する。高さ測定の基準点は、全デー
103 タの最下点を基準に取る方法、走査方向に対して粒子形状の立
104 ち上がりの際を基準点とする方法、測定者が任意に基準を設定
105 する方法などがある。いずれを採用する場合でも同じ条件で一
106 連の測定を行う。試料調製に伴うアーチファクトの影響を避け
107 るために、明らかな異物粒子や粒子どうしを区別できない大き
108 な凝集物は粒子サイズの平均値を算出する際に除外する。

1 3.2. 自動粒子解析によるサイズ測定

2 ソフトウェアを用いて粒子を自動で認識し、粒子サイズ測定
3 を一括して短時間で行うことが可能である。粒子の認識は、ユー
4 ーザーが設定する高さの閾値に基づき行われる。すなわち、設
5 定値以上の高さを持つ粒子は解析に含まれ、設定値以下の高さ
6 の粒子は解析から除外される。また、明らかな異物の粒子や粒
7 子同士を区別できない大きな凝集物はソフトウェア上で選択し
8 解析対象から除外できる。以上の操作後、基板の高さを基準と
9 した個々の粒子における最大高さが自動的に測定される。自動
10 粒子解析を行う際には、解析対象となる画像の傾き補正が適切
11 に行われた状態でなければ、結果に人為的な影響が出てしまう
12 のので注意する。自動粒子解析を行う際、結果が正しく出力され
13 ているかを断面形状解析による結果と照らし合わせて妥当性を
14 確認しておくようにする。自動解析ソフトによるナノ粒子の平
15 均高さは、断面形状解析による平均高さよりも大きくなる傾向
16 にある。なお、ソフトウェアには、画像中における粒子個々の
17 占有面積から粒子サイズを解析するものもある。この場合、粒
18 子サイズは面積相当直径として解析される。

19 3.3. 真球以外の形状を有するナノ粒子の解析

20 粒子サイズを評価するにあたり、粒子が基板に固定された時
21 に変形が起きる場合や、対象となる粒子の形状が球形でない場
22 合には、高さとは別に、粒子解析ソフトを利用しながら他のパ
23 ラメータの追加解析を検討することも重要であろう。例えば、
24 粒子が基板に固定された時に変形が起きる場合には、基板への
25 固定前後で体積が一定であると仮定し、体積相当直径がサイズ
26 評価パラメータとして利用できるであろう(図2A)。加えて、面
27 積相当直径や、高さ/面積相当直径比によって対象粒子の変形
28 した形状についての情報を得ることもできる(図2A)。また、対
29 象粒子が楕円形状である場合には、粒子が楕円に相当すると仮
30 定した場合の長径及び短径を測定することが可能であり、更に
31 短径/長径比を用いることで粒子の扁平率から形状について評
32 価することもできる(図2B)。側方(x,y)次元の情報が入り込む粒
33 子が球形でない場合の解析においては、カンチレバーの先端曲
34 率の影響を大きく受けるため、校正用格子を用いたカンチレバ
35 ー先端形状の評価などを行い、十分注意する。



36
37 図2 基板上で変形した粒子(A)及び(B)における形状評価¹⁾

38 3.4. サイズデータの報告

39 測定されたナノ粒子のサイズ(高さ)分布と、その平均値及び
40 標準偏差を報告する。測定に関わる因子はナノ粒子のサイズ測
41 定結果に影響を与えるため、ナノ粒子の固定化方法、カンチレ
42 ー、測定モード、測定環境が空気中か液中か、測定したナノ
43 粒子の個数及びサイズの解析方法に関する情報を記載すべきで
44 ある。

45 4. AFMの性能確認

46 AFMでは、カンチレバーのz位置を、ピエゾ素子の伸縮によ
47 って距離制御している。その伸縮は印加した電圧に対して非線
48 形性やヒステリシスなどの性質を有している。従来AFMで
49 は、ピエゾ素子に印加した電圧から高さzを求めている。しか
50 し、上記の性質のために、高さが保証された実際の試料を測っ
51 て検量線などを作成し「高さ補正」をする必要がある。例えば、
52 測定するナノ粒子の高さに近いステップ高さの校正用格子を選
53 択し、鋭い探針を使って少なくとも三つの異なる場所で測定し
54 たステップ高さの平均値を、校正用格子で保証されている高さ
55 の値と比較する。

56 測定された平均値が保証された値と大きく異なる場合、製造
57 業者などによるピエゾ駆動装置のz変位の再校正について検討
58 する必要がある。

59 一方、近年のAFMでピエゾ素子に測長センサを付随させた
60 装置では、ピエゾ素子がどれだけ伸縮したかを精密に測ること
61 ができるため、高さzは常に測定されている。つまり、常に高
62 さ補正・変位補正を続けている制御方法を有する装置も存在す
63 る。

64 参考資料

- 65 1) 加藤くみ子ら、医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス、
66 50, 634~640 (2019) .
- 67 2) ASTM E2859-11 : 2017, Standard Guide for Size
68 Measurement of Nanoparticles using Atomic Force
69 microscopy.

71 日本薬局方における秤量の考え方〈G1-6-182〉

72 日本薬局方一般試験法「計量器・用器(9.62)」のはかり(天
73 秤)及び分銅の項において、日本薬局方におけるはかり(天秤)及
74 び分銅は、国際単位系(SI)へのトレーサビリティが確保された
75 校正を実施しておくことが要求されている。

76 計量計測におけるトレーサビリティとは、「個々の校正が、
77 測定不確かさに寄与する、文書化された切れ目のない校正の連
78 鎖を通して、測定結果を計量参照に関連付けることができる測
79 定結果の性質」と定義されている。計量計測トレーサビリティ
80 の源として最も上位のものは、メートル(長さ)、キログラム
81 (質量)、秒(時間)、アンペア(電流)、ケルビン(熱力学的温度)、
82 カンデラ(光度)、モル(物質)の国際単位系(SI)基本単位であ
83 るが、はかり(天秤)の場合、質量に関してトレーサビリティが
84 保証される校正が実施されていることが基本となる。トレーサ
85 ビリティの要素には、a)切れ目のない比較の連鎖、b)測定不確
86 かさ、c)文書化、d)技術能力、e)国際単位系(SI)への参照、f)校
87 正があるが、本項では、このf)を要求している。また、日本薬
88 局方で使用されるはかり(天秤)には、繰返し性(併行精度)の要
89 件、正確さ(真度)の要件とともに、国際単位系(SI)へのトレー
90 サビリティが確保された校正の実施が規定されており、これら
91 を満たすことで、秤量結果が、国際単位系(SI)トレーサブルな
92 結果になり得る。

93 一方、日本薬局方における計量では、常に国際単位系(SI)ト
94 レーサブルな結果を求めているわけではない。これは、日本薬
95 局方に使用する標準品、標準物質のほとんどが、国際単位系
96 (SI)トレーサブルでないマスバランス法による計量により値付

1 けされていることから明らかである。日本薬局方における分析
2 は、決められた規則に従って実行し、規格(値)を満たすかどう
3 か判断するために実施するものである。

4 すなわち、医薬品各条での定量規格が99.0%以上とされてい
5 れば、医薬品各条に定められた定量法に従って分析するとき、
6 有効数字を考慮して、その分析値が98.95%以上であれば、日
7 本薬局方に適合となることから、有効数字4桁目まで正確に秤
8 量可能であることが重要となる。通常、10 µgの桁まで表示さ
9 れるセミマイクロ化学はかり(セミマイクロ化学天秤)では、上記の
10 規則に従って校正されていたとしても、読取限度桁では、
11 130%以上の誤差(±13 µg以上の誤差)があることが知られてい
12 る²⁾。したがって、そのセミマイクロ化学はかり(セミマイクロ化学
13 天秤)が、例えば定量法の実施時に、試料や標準品などを約0.1
14 g秤量する際、風袋も合わせて50.65432 gと表示したとすると、
15 100 µgの桁である3は、ほぼ正確であると考えられることから、
16 十分に定量法に使用する試料や標準品などの秤量に使用可能と
17 なる。日本薬局方における多くの定量法では、必要とする有効
18 数字は最大4桁であるが、例えば0.10%の水分含量や4.0%の乾
19 燥減量であれば、算出に必要な有効数字は3桁、0.1%の強
20 熱残分であれば2桁となる。そのため、分析を実施する際に使
21 用するはかり(天秤)は、これらの有効数字を満たすものを使用
22 することが必要となる。言い換えれば、日本薬局方においては、
23 目的に応じた考え方(fit for purpose)に沿って計量を実施する
24 ことが重要となる。したがって、確認試験や純度試験としての
25 呈色反応に使用する0.2 gの医薬品を秤量する際には、使用す
26 るはかり(天秤)の有効数字は2桁あれば十分である。一方で、
27 ウルトラマイクロ化学はかり(ウルトラマイクロ化学天秤)を使用し
28 て定量NMRで純度規定を行う試薬について5 mg程度秤量する
29 場合、風袋も合わせて例えば25.2345 mgと表示したとすると、
30 1 µgの桁である4は、ほぼ正確であると考えられる。純度の算
31 出に使用する有効数字は3桁であることから、風袋の重さが20
32 mg程度であったとしても、試薬の秤量値としては4桁目がほぼ
33 正確となり、十分使用可能となる。また、もし、マイクロ化学は
34 かり(マイクロ化学天秤)しか保有していない場合でも、試薬を10
35 mg以上秤量すれば、有効数字4桁目までほぼ正確であると考え
36 られる。

37 他方、秤量する際には、どのような誤差が生じているかの理
38 解が重要となる。適切に校正されたはかり(天秤)では、秤量時
39 の誤差を生じる要因として、感度変化、繰返し性、直線性、偏
40 置などがある。感度変化は、その場所に加わる重力加速度の変
41 化や温度ドリフトなどにより生じる。はかり(天秤)を移設した
42 場合には、その場所に加わる重力加速度が異なるため、感度調
43 整が必要な場合がある。特に、電子式はかり(天秤)は、電磁力
44 と自由落下の加速度(重力)との釣り合いで補正され、質量が表
45 示されるため、移設する前の場所で感度調整されたはかり(天
46 秤)は、移設先の環境が違くと、実際とは異なった質量を表示
47 する。また、環境の変化によっても表示値は変化するため、は
48 かり(天秤)の内部分銅や、外部分銅を用いて感度調整を行う必
49 要がある。

50 繰返し性は、同一試料をはかり(天秤)の計量皿へ複数回はかり
51 取った際の表示値のまとまり度合いで、10 µg以下の桁まで
52 読み取れる高い表示分解能を有するはかり(天秤)の性能評価に
53 必要な特性である。

54 日本薬局方一般試験法「計量器・用器 (9.62)」のはかり(天

55 秤)及び分銅の項に示された繰返し性(併行精度)の要件により得
56 られる結果から、そのはかり(天秤)のそのときの最小計量値が
57 推定される。国際単位系(SI)トレーサブルな秤量とするため
58 には、そのはかり(天秤)において、最小計量値より大きな質量の
59 はかり取りを行うことが目安となる。

60 最小計量値は、そのはかり(天秤)の設置環境(設置場所の振動
61 の有無など)、秤量時の温度変化などの影響を受けるため、経
62 常的に最小計量値を記録しておくことは、正確な秤量にとって
63 重要となる。なお、最小計量値とは、風袋を含めない、はかり
64 (天秤)の正確さを確保するための秤量の下限を示す推定値であ
65 り、繰返し性(併行精度)の要件によって得られた標準偏差を用
66 いて、最小はかり取り量の精密さを確保するために繰返し性
67 (併行精度)が0.10%以下であることを要求している。すなわち、
68 国際単位系(SI)トレーサブルな秤量を行う場合、最小計量値以
69 上のはかり取りを行う必要がある。はかり(天秤)における繰返
70 し性(併行精度)に影響を与える可能性のある要因は次のとおり
71 である。

- 72 1) 最小計量値は、はかり(天秤)の性能であり、この値は環境
73 の変化や時間の経過とともに変化する可能性がある。
- 74 2) 測定者が異なれば、はかり取りの方法も異なる場合があ
75 る。つまり、測定者ごとに決定される最小計量値が異なる
76 場合がある。
- 77 3) 有限回数の繰返しの標準偏差は、真の標準偏差の推定値
78 であり、現実には特定できないことに留意する。
- 79 4) 最小計量値の決定は、既定の試験法に完全には合致しな
80 い場合がある。
- 81 5) 使用する風袋容器が環境によって質量に影響を与える場
82 合には、最小計量値に影響を与える可能性がある。

83 これらの要因から、多くの場合、最小計量値よりも大きな
84 値ではかり取りを行う必要がある。つまり、はかり(天秤)を
85 使用した現実的な最小はかり取り量は、最小計量値よりもあ
86 る程度大きく設定すべきである。

87 直線性誤差は、ゼロ点から最大秤量点までをほぼ等しく分
88 割した各点における理想直線からの偏りの程度である。感度
89 誤差は、直線性誤差も考慮したゼロ点からの直線の傾きの度
90 合いであり、一般にゼロ点から最大秤量点に近づくほど誤差
91 は相対的に大きくなり、環境変化に連動して顕著である。し
92 たがって、正確さ(真度)の要件では、許容される感度誤差を
93 確認するため、はかり取りを行う範囲の上限付近、あるいは
94 はかり(天秤)の最大秤量値を若干下回る程度の質量の分銅を
95 用いる。偏置誤差は、はかり(天秤)の中心から、離れた場所
96 に荷重を加えた際の表示値の変化の程度であり、試料や採取
97 容器が特殊な形状でなければ、配慮する必要性は低い。通常
98 の環境における正確さ(真度)の評価には、感度、直線性及び
99 偏置の三つの誤差が含まれるが、誤差の伝播則(二乗和の平方
100 根)により合否基準0.10%は、次の式²⁾を満たすことになる。

$$101 \quad 0.10\% \leq \sqrt{\text{感度誤差}0.05\%^2 + \text{直線性誤差}0.05\%^2 + \text{偏置誤差}0.05\%^2}$$

103 したがって、正確さ(真度)の要件では、1回の分銅ののせ降
104 ろしにより得られたはかり(天秤)の表示値と分銅の質量値の
105 差として0.05%以下を要求している。言い換えれば、感度誤
106 差に0.05%、直線性誤差に0.05%を配分しているといえる。

107 上記の誤差を考慮すると、はかり(天秤)の点検としては、

1 少なくとも、はかり(天秤)の最大秤量値の5%付近に対する精
 2 密さと、最大秤量値付近(又は使用範囲の最大値付近)に対す
 3 る正確さ(真度)を確認する目的で、繰返し性(併行精度)の要件
 4 と、感度誤差(正確さ(真度))の要件を実施することが求められ
 5 ている。なお、繰返し性(併行精度)の確認には、質量変化の
 6 ない分銅を使用し、正確さ(真度)の確認には国際単位系(SI)ト
 7 レーサブルな校正証明書付きの分銅を使用する。正確さ(真
 8 度)の要件を満たさない場合には、そのはかり(天秤)について
 9 不確かさ³⁾の値が得られるトレーサビリティが確保された校正
 10 を行う必要性が生じる。

11 **参考資料**

- 12 1) ISO/IEC Guide 99: 2007, 国際計量計測用語－基本及び
- 13 一般概念並びに関連用語(VIM).
- 14 2) Reichmuth. A and Fritsch. K, Pharmaceutical
- 15 Engineering 29(6), 46-58 (2009).
- 16 3) ISO/IEC Guide 98-3: 2008, 測定の不確かさ－第3部:測定
- 17 における不確かさの表現の手引(GUM:1995).

18
 19 **はかり(天秤)の校正, 点検と分銅 <G1-7-182>**

20 使用するはかり(天秤)が要求される性能を満たすことを評価
 21 するための定期的な(機器導入据付時を含む)校正では、国際単
 22 位系(SI)へのトレーサビリティを確保することを目的として、
 23 質量の標準として使用する分銅と測定機器として用いるはかり
 24 (天秤)について、不確かさが付随した校正結果の取得が必要と
 25 なる。校正結果の妥当性の確保のためには、校正が国際的技術
 26 ガイドライン(ISO/IEC 17025など)に準じて行われていること
 27 が必要で、それに伴い適正に文書化された校正証明書を取得す
 28 ることまでが推奨される。

29 分銅は日本産業規格(JIS B 7609)¹⁾に準拠して、はかり(天秤)
 30 の要求を満たす公称値や精度等級を有するものを選択する。合
 31 否判定基準によっては、点検用分銅の公称値のみを使用すれば
 32 十分な場合があるが、点検用分銅の公称値のみを使用する場合、
 33 分銅の表示量と精度等級で決定される最大許容誤差がはかり
 34 (天秤)の正確さ(真度)の合否判定基準の3分の1を超えてはなら
 35 ない。又は点検用分銅の協定質量値(温度20℃における分銅の
 36 密度を8000 kg/m³, 空気密度を1.2 kg/m³とみなした場合の
 37 質量値)を考慮する場合、その校正の拡張不確かさは合否判定
 38 基準の3分の1を超えてはならない。点検に複数の分銅を使用
 39 する場合、分銅の校正の不確かさを総和する必要があり、その
 40 合計が合否判定基準の3分の1を超えてはならない。なお、偏
 41 置や繰返し性の点検では、校正された分銅の使用は任意である
 42 が、点検中に分銅の質量が変化しないことを確実にすること。

43 外部分銅を使用した点検は、はかり(天秤)が要求仕様を満た
 44 していることを確実にする。はかり(天秤)の点検は個々の標準
 45 操作手順に基づいて行われ、点検の頻度及び間隔は、試験法や
 46 秤量に伴うリスクによって異なる。内部分銅を使用した自動又
 47 は手動で操作される感度誤差の調整は、外部分銅を使用した点
 48 検を部分的に置き換えることができる。

49 以下の表にはかり(天秤)に関して、機器特性ごとの確認事項、
 50 求め方及び合否判定基準を示す。

特性	確認事項	求め方	合否判定基準
感度誤差	分銅の質量値と表示値の偏差	最大秤量値付近の分銅の質量値と表示値の差を分銅の質量値で除した値	0.05%以下
直線性誤差	仕様範囲全体における質量値と表示値の偏差	仕様範囲(ゼロ点から最大秤量点)の3～6点に分割された各点の分銅の質量値と表示値の偏差の最大値	0.05%以下
偏置誤差	計量皿の中心から偏心した位置で秤量した際の質量値と表示値の偏差	中心と計量皿の四方へ分銅を置いた際の分銅の質量値と表示値の偏差の最大値。その際、分銅は最大秤量値の30%以上の質量値であること。	0.05%以下
繰返し性	同じ条件(手順、測定者、場所など)及び短時間で同一試料を繰返しはかり取った際の、表示値のまとまり度合い	100 mg以上で、最大秤量値の5%程度の質量値である分銅を10回以上のせ降ろすことにより得られた表示値の標準偏差から計算する。	0.10%以下

51 なお、取引証明に使用するはかり(天秤)のうち特定計量器の
 52 検定及び検査に使用する基準分銅は、基準分銅の検査において、
 53 校正結果の値付け及び不確かさを含めた結果の評価を実施して
 54 いない点で、国際単位系(SI)トレーサブルな分銅ではなく、局
 55 方で使用するはかり(天秤)の正確さ(真度)の確認には使用でき
 56 ない。

57 **参考資料**

- 58 1) 国際勧告 OIML R111-1:2004; 日本規格協会, JIS B
- 59 7609:2008, 分銅

60
 61 **はかり(天秤)の設置環境, 基本的な取扱い方**
 62 **法と秤量時の留意点 <G1-8-182>**

63 はかり取る質量は通常、最小計量値より大きい質量を目安と
 64 し、はかり取りを行う前に、秤量に使用する器具類の準備及び
 65 整理整頓(清掃)を行い、はかり(天秤)の感度調整を行う。以下
 66 に、はかり(天秤)の設置環境, 基本的な取扱い方法及び秤量時
 67 の留意点を記す。

68 **1. はかり(天秤)の設置環境**

69 はかり(天秤)は広すぎない部屋で、振動源、通風箇所、室内
 70 電灯の放射熱及び直射日光を受ける壁面を避けた、常時、周囲
 71 の環境が変化しない場所に設置することが望ましい。また、振
 72 動の影響が小さいとされる部屋の隅又は大きな柱の傍で使用す
 73 ることが理想的であり、はかり(天秤)が据付けされる計量台(除
 74 振台、防振台など)はそれ自身に十分な質量があり、計量台へ
 75 重量物などの負荷を加えても上下のひずみがなく堅ろうで、磁
 76 性及び帯電性に配慮されていることが望ましい。特に、読取り
 77 限度桁が0.1 mg以下のはかり(天秤)は、ヒトの感覚では感じる
 78 ことができない微振動の試料自身への伝搬や、微振動にはかり
 79 (天秤)の計量センサーが反応することで、表示値に不安定性を
 80 起こすため、設置又は移設する際には注意を払うことが必要と
 81 なる。保全管理の面においても、はかり(天秤)の機器部品の劣
 82 化を避けるため、結露の要因となる急激な温度変化がない環境
 83 が必要となる。また、電子機器であるはかり(天秤)の設置環境
 84 は温度5～40℃、かつ相対湿度20～80%、静電気などの影
 85 響を考慮する場合は相対湿度45%以上が望ましい。

2. はかり(天秤)の使用前の動作確認

はかり(天秤)を使用する前には、次に示す事項について確認を行う。

2.1. 予熱待機時間の確保

電源供給後、検出器の内部温度を安定化させるために予熱待機時間を確保する。予熱待機時間は、読取り限度桁が10 mg以上の場合は30分間以上、1 mgの場合は1時間以上、0.1 mgの場合は2時間以上、0.01 mg以下の場合は半日以上を確保することが望ましい。

2.2. 据付状態の確認

はかり(天秤)に装備されている水平器の気泡が中心位置にあるなど、水平器にて水平であることを確認する。水平調整の際には、はかり(天秤)が不安定でないかの確認及び計量台と接しているはかり(天秤)の足と設置面に隙間がないか目視確認することが望ましい。

2.3. 感度調整の実施

感度調整機能を備えた(調整用内部分銅が装備された)はかり(天秤)の場合、表示器のゼロ点及び最大秤量値付近について周辺温度の状態に応じて適切な感度調整を行うことが可能である。分解能が高いほど感度変化の影響は大きくなり、感度変化による測定誤差は、一般的にゼロ点から秤量する質量付近まで相対的に大きくなる。感度調整機能を備えていない機器については、最大秤量値付近の分銅を用いて、感度調整を手動で実施することが望ましい。

3. 清掃

目的物以外のはかり取りを避けるため、清掃を定期的に行う。はかり(天秤)の構造を理解し、簡易的に分解して清掃が可能な場合は、ガラスクリーナー、毛羽立ちのない布などを用いて各部をこまめに清掃し、計量皿及び計量室内は清浄な状態を保つ。

4. 計量結果に影響する外的要因の排除

計量結果に影響を及ぼす外的要因は、可能な限り排除する。吸湿、吸着、揮発又は蒸発しやすい試料の場合は、秤量値に偏りが生じないように試料の特性に応じた対策をとる必要がある。例えば、吸湿性のある試料を秤量する場合には、はかり(天秤)を恒温恒湿ボックス内に設置し、事前に試料を一定の温湿度条件になじませた後に秤量すると、再現性の良い秤量が可能となる。試料そのものの性質以外に計量結果に影響を与える外的要因について以下に記す。

4.1. 計量皿周辺と試料(採取容器を含む)間の温度差

試料の冷蔵保管、異なる温度の室外からの持ち込み、熱処理、体温による熱伝導などによって、計量皿周辺と試料間に温度差が生じる。試料及び採取容器が計量室内の温度よりも高い場合は、計量皿付近に上向きの微量な風(対流)が発生し、その現象が試料及び採取容器を押し上げる力となり表示値の減少又は不安定性を生じさせる。温度関係が逆の場合は、相対して逆の傾向が表れる。これらの現象は計量皿周辺に起こる物理的現象であるため、はかり(天秤)に風防が備えられていたとしても避けられない。したがって、はかり(天秤)の計量室内と試料、採取容器の温度が、可能な限り同等な条件ではかり取りを行う。

4.2. 空調などによる風

空調機から吹き出す風、計量室への人の出入り、及び測定者のはかり取り操作に伴って生じる空気の流れが計量皿に当たると、表示値が不安定になる。このような風の影響を抑えるには、風防を設けて、風が計量皿に直接当たらないようにする。ある

いは、風が当たらないような場所に移設する。風が直接的にははかり(天秤)に吹き当たるような状態で開閉ドアを備えているはかり(天秤)を使用する際は、必要以上に開閉ドアを大きく開けないことが重要である。

4.3. 静電気

摩擦によって帯電しやすい粉体などの試料及び採取容器を用いる場合、又は計量室内が相対湿度40%以下の低湿度状態である場合では、はかり(天秤)との電荷の力の作用によって表示値が上方又は下方に変動するため計量結果に影響を与える。このような静電気への対策として、計量室の湿度を45%以上に保つ、蓄積された静電気の消散を待つ、採取容器を帯電防止加工に変更するなど挙げられる。これらの対策が取れない場合には、イオナイザーなどの帯電した電荷を中和させる、又は消散を促進する器具を用いて可能な限り除電を行った後に、測定を行うことを推奨する。ただし、除電の際、表示値の不安定性を起す風を計量皿に直接吹きかけるような器具の使用は避ける。

参考情報 G2. 物性関連 固体又は粉体の密度 を次のように改める。

固体又は粉体の密度〈G2-1-182〉

集合体としての固体又は粉体の密度は、粒子間及び粒子内部に存在する微細な空隙部分の体積の評価方法により、異なる定義がなされ、それぞれ異なる数値が与えられ、かつ実用上の意味も異なる。通常、固体又は粉体の密度は三つのレベルで定義される。

- (1) 結晶密度 空隙のない均一系とみなされ、真密度とも称される。
- (2) 粒子密度 開孔部のない空隙、又は気体により置換されない粒子内細孔も固体又は粉体の体積として評価される。
- (3) かさ密度 粉体層内に形成される空隙部分も固体又は粉体の体積として評価されることから、みかけ密度とも称される。通常、疎充填時の粉体の密度は疎充填かさ密度、タップ充填時の密度はタップ充填かさ密度と定義される。

一般に、液体や気体の密度は温度と圧力のみに依存するが、固体又は粉体の密度は分子又は粒子の集合状態に依存する。したがって、固体又は粉体の密度は、当該物質の結晶構造、結晶化度によって変化することはもちろんであるが、試料が非晶質であるか、その一部が非晶質である場合、試料の調製法又は処理法によって変化する。したがって、二つの固体又は粉体が化学的には同一物質であっても、それらの固体構造が違えば、異なる密度を与える。固体又は粉体粒子の密度は、粉末状医薬品及び医薬品原料の重要な物理的特性であることから、日本薬局方では、粒子密度は「3.03 粉体の粒子密度測定法」、かさ密度は「3.01 かさ密度測定法」として、それぞれの密度測定法を規定している。

固体又は粉体の密度は、単位体積当たりの質量(kg/m³)であり、通例、g/cm³で表す(1 g/cm³=1000 kg/m³)。

1 結晶密度 (Crystal Density)

- 2 ある物質の結晶密度とは、分子の充填配列 (molecular
3 packing arrangement) の基本部分 (fundamental part) に属さ
4 ない、全ての空隙を除いた単位体積当たりの平均質量である。
5 これはその物質の特定の結晶構造に固有な特性であり、測定法
6 に依存しない。結晶密度は、計算又は簡単な測定によって求め
7 ることができる。
- 8 A. 計算による結晶密度は、例えば、単結晶のX線回折データ
9 又は粉末X線回折データの指標化によって得られる結晶学
10 的データ (単位格子の体積と組成) から与えられる。
- 11 B. 測定による結晶密度は、単結晶の質量と体積の測定により、
12 その比 (質量 / 体積) として与えられる。

13 粒子密度 (Particle Density)

- 14 粒子密度は、結晶密度に加えて粒子内の空隙 (粒子内部の閉
15 じた空隙及び開孔部はあるが気体が浸入できない空隙) も粒子
16 体積の一部と評価して求められる密度である。すなわち、粒子
17 密度は測定された体積に依存し、体積の評価は測定法に依存す
18 る。粒子密度の測定は、日本薬局方では「3.03 粉体の粒子密
19 度測定法」として、ピクノメーター法を規定している。
- 20 ピクノメーター法による密度は、気体置換型ピクノメーター
21 を用いて、質量既知の粉体の体積を置換された気体の体積に等
22 しいものと評価することにより求める。ピクノメーター法によ
23 る密度の測定においては、気体の浸入が可能な開孔部のある空
24 隙は粉体の体積とみなされないが、気体が浸入できない密閉状
25 態にある空隙は粉体の体積の一部とみなされる。ヘリウムは拡
26 散性が高く、開孔部のあるほとんどの空隙に浸入できるため、
27 粒子密度測定用気体として推奨される。したがって、細かく粉
28 砕された粉体のピクノメーター法による粒子密度は、一般には
29 結晶密度とあまり変わらない。このため、この方法による粒子密
30 度は、非晶質又は部分的に結晶性である試料の真密度の最良の
31 推定値とみなされ、製造工程中にある医薬品粉末の製造管理に
32 広く役立てることができる。

33 かさ密度 (Bulk Density)

- 34 粉体のかさ密度は、粒子間の空隙も粉体体積の一部と評価し
35 て求められる。したがって、かさ密度は粉体の粒子密度と粉体
36 層中での粒子の空間配列に依存する。
- 37 また、粉体のかさ密度は粉体層の僅かな揺動によっても、そ
38 の空間配列が変化するため、再現性よくかさ密度を測定するこ
39 とは極めて難しい。したがって、かさ密度の測定値を示す場合、
40 測定条件と共に、どのように測定したかを明記することが重要
41 である。
- 42 日本薬局方では「3.01 かさ密度測定法」を規定している。
- 43 A. 疎充填かさ密度は、ふるいを通してメスシリンダー中へ注
44 入した質量既知の粉体の体積 (疎充填体積) を測定すること
45 により求められる (定質量法)。別に日本薬局方では、一定
46 容量 (疎充填体積) の粉体の質量を測定することにより、疎
47 充填かさ密度を求める方法 (定容量法) も規定している。
- 48 B. タップ充填かさ密度は、粉体を入れたメスシリンダーを機
49 械的にタップすることにより求められる。初期の疎充填体
50 積を測定した後、メスシリンダーを一定の測定条件 (タップ
51 速度及び落下高さ) で機械的に規定の回数タップし、連続す
52 る2回の測定間で体積変化が許容範囲内となるまで測定を
53 繰り返す (定質量法)。別に日本薬局方では、タップ充填さ
54 れた一定容量の粉体の質量を測定することにより、タップ

55 充填かさ密度を求める方法 (定容量法) も規定している。

56 参考情報 G2. 物性関連 粉体の流動性 を次のように改
57 める。

58 粉体の流動性 (G2-3-182)

59 本試験法は、三薬局方での調和合意に基づき規定した試験法である。
60 三薬局方の調和合意に関する情報については、独立行政法人医薬品医
61 療機器総合機構のウェブサイトに掲載している。

62 医薬品では幅広く粉体利用されることから、粉体の流動性
63 を評価するための種々の方法が考案されてきた。製剤に関する
64 文献中には、粉体の流動性に関する種々の測定値を製造特性と
65 関係づけようとする多数の論文が出されている。このような
66 種々の試験法が開発されているのは当然である。なぜならば、
67 粉体の挙動は多面的であるので、これが粉体の流動性を評価し
68 ようとする努力を面倒にしているからである。本項では、医薬
69 品に最も多く用いられる粉体の流動性の評価法について記述す
70 る。医薬品粉体の流動性を適切に評価できる単純で簡便な測定
71 法はないが、本項では、幾つかの試験法の標準化を提案してい
72 る。粉体の流動性評価に広く用いられている四つの試験項目及
73 び測定法、すなわち、「1.安息角」、「2.圧縮度又はHausner
74 比」、「3.オリフィスからの流出」、及び「4.せん断セル法」
75 である。

76 一般に、いかなる粉体の流動性測定法であっても、実用的か
77 つ有用であり、更に再現性がある感度が良く、意味のある結
78 果が得られなければならない。これらいずれの手法を用いた測
79 定でも、複数回の測定が望ましい。繰返しになるが、ある一つ
80 の流動性測定法では、製薬用途で遭遇する広範囲な流動性を適
81 切に又は完全に評価できない。製剤研究者や技術者の必要性に
82 応じて、種々の見地から粉体の流動性を評価するために、多数
83 の標準化された試験法をうまく利用することが適切な評価につ
84 ながる。

85 1. 安息角

86 安息角は、粉体の流動性を評価するために幾つかの科学分野
87 で用いられてきている。安息角は、粒子間摩擦、又は粒子間の
88 運動に対する抵抗性に関係する特性値である。安息角の試験結
89 果は、測定法に大きく依存する。本測定法では円錐形成時の粉
90 体の分離・偏析や圧密又はエアレーションのために、実験上に
91 困難を生じる。これらの難点があるにもかかわらず、本測定法
92 は製薬工業において利用され続けており、製造面での諸問題を
93 予測する際の価値を示す多数の例が文献中に見られる。

94 安息角は、次項で述べる方法のいかんにかかわらず、形成さ
95 れる堆積体が円錐状であると仮定した際の水平面に対する三次
96 元的角度である。

97 1.1. 安息角測定法

98 多数の安息角測定法が提案されているが、静的安息角を測定
99 するための最も一般的な方法は、二つの重要な実験の変数の扱
100 いにより次のように分類される。

101 (i) 粉体を流下させる漏斗の高さを基板に対して固定して
102 おくか、又は堆積体が形成されるにつれて漏斗の高さを変える。

1 (ii) 堆積体が形成される基板の直径を一定とする(すなわち、
2 堆積体の直径は既知である)か、又は堆積体の形成に応じて基
3 板の直径を変える。

4 上記の基本的な測定法に加えて、以下のような変法も用いら
5 れている。

6 (i) 排出安息角：一定の直径を持つ円板上にある過剰量の粉
7 体を容器から排出させることによって測定する。円板上に形成
8 された円錐から、排出安息角を測定する。

9 (ii) 動的安息角：片面が透明で平らな面を持つ円筒内に粉体
10 を入れ、これを一定速度で回転させる。動的安息角は円筒内で
11 流動している粉体層の斜面が水平面との間で形成する角度とし
12 て測定される。内部運動摩擦角は粉体の最上層を流下する粒子
13 と粗い表面仕上げとされている円筒と一緒に回転している粒子
14 を分離している面によって定義される。

15 1.2. 安息角に関する流動性の程度

16 安息角を用いて粉体の流動性を定性的に説明する際に多少の
17 違いはあるが、Carr¹⁾による分類(表1)は有用である。処方設計
18 において40～50°の安息角を持つ試料であっても良好な結果
19 が得られることもあるが、安息角が50°を超えると、製造に適
20 さないことが多い。

21 表1 流動性の程度と対応する安息角¹⁾

流動性の程度	安息角(°)
極めて良好	25～30
良好	31～35
やや良好(架橋防止対策不要)	36～40
普通(架橋の限界点あり)	41～45
やや不良(攪拌や振とうが必要)	46～55
不良	56～65
極めて不良	>66

22 1.3. 測定に関して留意すべき点

23 安息角は個々の粉体に固有な物性値ではない。すなわち、粉
24 体の円錐を形成させるために用いた方法に大きく依存する。こ
25 の点に関して、次のような重要な点が挙げられている。

26 (i) 上方から落下してくる粉体の衝撃によって円錐の頂点が
27 ゆがむ。円錐を注意深く形成させることによって、衝撃による
28 ゆがみは軽減される。

29 (ii) 円錐が形成される円板の性質が安息角に影響する。粉体
30 層の上に円錐を形成させることができる“共通の基底部”を用
31 いて円錐を形成させるとよい。これは、円錐を形成させる粉体
32 層を保持するための外縁部を用いることによって可能となる。

33 1.4. 推奨される測定手順

34 粉体層を保持するための保持縁を持つ、固定された円板上に
35 安息角を形成させる。円板は振動しないようにする。対称性の
36 ある円錐を注意深く形成させるために、円錐の高さに応じて漏
37 斗の高さを変えると良い。この場合、漏斗が動くので、振動し
38 ないように注意する。円錐の先端部に落下する粉体の衝撃を最
39 小限にするために、漏斗脚部下端の高さは堆積体の頂点から約
40 2～4 cmの位置に保つ。対称性のある円錐を首尾よく又は再
41 現性よく形成させることができない場合には、本法は適切では
42 ない。円錐の高さを測定することによって、次式から安息角 α
43 を求める。

$$44 \tan \alpha = \text{高さ} / (0.5 \times \text{円板の直径})$$

45 2. 圧縮度及びHausner比

46 圧縮度とこれに密接に関係するHausner比は、粉体の粒子
47 サイズや粒子形状、真密度、表面積、含水率、付着性などに影
48 響されるため、粉体の流動特性を予測することができる。圧縮
49 度及びHausner比は、粉体の疎充填体積とタップ充填体積か
50 ら算出される。詳細はかさ密度測定法(3.01)を参照すること。

51 2.1. 圧縮度及びHausner比測定法

52 圧縮度とHausner比の測定法はやや異なるが、基本的な手
53 順は、同一の粉体試料について疎充填体積 V_0 と、これ以上の
54 体積変化が生じなくなるまで試料をタップした後の最終タップ
55 充填体積 V_f を測定することである。次式により圧縮度と
56 Hausner比を計算する。

$$57 \text{圧縮度} = (V_0 - V_f) / V_0 \times 100$$

$$58 \text{Hausner比} = V_0 / V_f$$

59 圧縮度とHausner比は、疎充填かさ密度(ρ_{untapped})とタップ充
60 填かさ密度(ρ_{tapped})の測定値を用いて、次式により求めること
61 もできる。

$$62 \text{圧縮度} = (\rho_{\text{tapped}} - \rho_{\text{untapped}}) / \rho_{\text{tapped}} \times 100$$

$$63 \text{Hausner比} = \rho_{\text{tapped}} / \rho_{\text{untapped}}$$

64 これらの変法として、タップ中に生じるかさ体積変化に代わ
65 って、圧密率が測定されることもある。圧縮度とHausner比
66 について、広く報告されている流動性の程度を表2に示す。

67 表2 流動性の程度と対応する圧縮度及びHausner比

圧縮度(%)	流動性の程度	Hausner比
≤10	極めて良好	1.00～1.11
11～15	良好	1.12～1.18
16～20	やや良好	1.19～1.25
21～25	普通	1.26～1.34
26～31	やや不良	1.35～1.45
32～37	不良	1.46～1.59
>38	極めて不良	>1.60

68 圧縮度とHausner比は粉体に固有な特性値ではなく、用い
69 た測定法に依存する。疎充填体積 V_0 、最終タップ充填体積 V_f 、
70 疎充填かさ密度 ρ_{untapped} 、及びタップ充填かさ密度 ρ_{tapped} の測
71 定に影響するため考慮すべき重要な点は以下のとおりである。

- 72 (i) 用いたメスシリンダーとホルダーの直径と質量
- 73 (ii) タップ充填かさ密度を得るための粉体のタップ回数
- 74 (iii) タップの高さ
- 75 (iv) 試験に用いた粉体の質量
- 76 (v) タップ中のメスシリンダー内における粉体試料の回転

77 3. オリフィスからの流出

78 粉体の流出は多くの因子に依存するが、そのうちの幾つかは
79 粒子自体の特性に関係しており、また他の幾つかは測定法に関
80 係する。粉体の流動度の測定には、(粉体がアーチングを生じ、
81 それ以上流出することができなくなるオリフィス径である“アー
82 チング径”を評価することにより)オリフィスからの粉体の流
83 出性とその流出速度を観測する方法が使用されてきた。ここで
84 特に重要なことは、自由流動性のある粉体であっても脈動型の
85 流動パターンが観察されるので、流出を連続的にモニターする
86 ことが有用であるということである。また、容器が空になる際
87 も流出速度の変化が見られる。これまでにオリフィス径、粒子

1 径及び粒子密度に対する流出速度に関係する幾つかの実験式が
2 提案されている。粉体のアーチング径の評価は、粉体が凝集性
3 を有する場合も自由流動性を有する場合も適用できるが、オリ
4 フィスからの流出速度の測定は、自由流動性を有する粉体にの
5 み適用可能である。

6 オリフィスからの流出速度は、一般には多種類の容器(円筒
7 状容器、ファネル、ホッパー)のいずれにおいても、これらか
8 ら流出する試料の単位時間当たりの質量として測定される。流
9 出速度の測定は間欠的又は連続的に行うことができる。

10 3.1. オリフィスからの流出試験法

11 オリフィスからの流出速度を測定する際に最も共通する問題
12 点は、三つの重要な実験的変数に基づいて次のように分類でき
13 る。

14 (1) 粉体を入れた容器の種類 一般的な容器は円筒状容器、
15 ファネル又はホッパーである。

16 (2) 用いたオリフィスの大きさや形状 オリフィス径とその
17 形状は、粉体の流出速度を測定する際の重要な因子である。

18 (3) 流出速度の測定法 流出速度は、ある種の記録装置が付
19 属した電子天秤を用いて連続的に測定することができる。また、
20 流出速度は、不連続な試料についても個別的に測定することが
21 できる(例えば、100 gの粉体がオリフィスを通過するのに要す
22 る0.1秒単位までの時間、又は10秒間にオリフィスを通過する
23 0.1 g単位までの粉体の質量)。

24 3.2. オリフィスからの流出試験法の変法

25 質量基準又はかさ体積基準のいずれの流出速度も測定するこ
26 とができる。質量基準速度の方が測定しやすいが、高密度の粉
27 体では大きな測定値が得られる。錠剤機の臼中への粉体の充填
28 はかさ体積基準であるので、この場合にはかさ体積基準の流出
29 速度を測定することが望ましい。容器から粉体が流出しやすく
30 するためにパイプレーターを取り付けることもあるが、これは
31 結果の解析を複雑にする。ロータリー式錠剤機の運転条件をよ
32 り精密に再現するための振動式オリフィス装置が提案されてい
33 る。粉体が流出する最小オリフィス径も確認することができる。
34 流出速度は用いた測定法に極めて大きく依存するので、一般
35 的な尺度はない。また文献の結果を比較することも困難である。

36 3.3. 測定に関して留意すべき点

37 オリフィスからの流出は、個々の粉体に固有な物性値ではな
38 い。これは用いた方法に極めて大きく依存する。これらの方法
39 に影響する、次のような幾つかの重要な点が指摘されている。

40 (i) オリフィス径と形状

41 (ii) 容器の材質(金属、ガラス、プラスチック)

42 (iii) 容器内での粉体層の直径と高さ

43 3.4. 推奨される測定手順

44 オリフィスからの流出速度測定は、ある程度の流動性を持つ
45 粉体のみに用いることができる。したがって、付着性粉体には
46 用いることができない。粉体層の高さがオリフィス径より十分
47 に大きければ、流出速度は実質的には粉体層の高さには関係し
48 ない。円筒状容器は流出にほとんど影響しないので、容器とし
49 てこれを用いる。この形状では容器の壁面に沿った粉体ではな
50 く、粉体層内での粉体の運動による流速を測定していること
51 になる。粉体層の高さが円筒状容器の直径の2倍未満の場合には、
52 粉体の流出速度はしばしば増加する。オリフィスの形状は円形
53 とし、円筒状容器は防振状態とする。円筒状容器の寸法に関す
54 る一般的な指標は次のとおりである。

55 (i) オリフィス径>粒子径の6倍

56 (ii) 円筒状容器の直径>オリフィス径の2倍

57 容器としてホッパーを用いるのは適切であり、製造に際して
58 の流出をよく表している。また、ファネル、特に軸管を持つも
59 のについては、流出速度は軸管と粉体間の摩擦と同様に、軸管
60 の直径と長さによって決まるので、これを用いるのは得策では
61 ない。円錐の先端を切断したものも良いが、流出は粉体一壁面
62 間の摩擦係数に影響されるので、適切な材質を選択することが
63 重要である。

64 円筒状容器内のオリフィスについては、粉体層内での流動パ
65 ターンをより確実にするために、口径を変えられるような機能
66 を持つ平面状の底板を用いる。流出速度は間欠的又は連続的
67 に測定できる。電子天秤を用いた連続測定は、瞬間的な流出速
68 度の変動をより効果的に検出することができる。

69 4. せん断セル法

70 より基本的な原理に基づいた粉体の流動性研究やホッパーの
71 設計を進めようとする際、粉体の流動性をより完全かつ正確に
72 定義した評価ができる、種々の粉体せん断試験装置や方法が開
73 発されている。せん断セル法は、医薬品粉体の研究において広
74 範囲に用いられている。本法によれば、粉体層が横滑りし始め
75 る直前のせん断応力と垂直応力の関係を表す破壊包絡線、内部
76 摩擦角、非限界降伏力、粉体の凝集、フローファンクションの
77 ような種々の関連するパラメーターを含む広範囲なパラメータ
78 ーが得られる。また、本法では実験上のパラメーターをより正
79 確に制御することができるので、流動特性は圧密荷重、時間、
80 その他の環境条件の関数として測定することもできる。これら
81 の方法を用いることにより、ホッパーや貯槽用容器の限界寸法
82 を適切に求めることができる。

83 4.1. 測定法

84 せん断セルの第一のタイプは、上下に二分割できる固定セル
85 と可動セルとの境にせん断面を形成させる並進せん断セルに相
86 当する。この方法では、所定の手順に従ってせん断セル内の粉
87 体層を圧密した後、粉体層をせん断するのに要する力を測定す
88 る。並進せん断セルは円筒型又は矩形状の箱型である。

89 第二のタイプのせん断セルは、回転せん断セルに相当する。
90 これには、円筒型のもので環状型のものがある。これらは、試
91 料量が少なく済むなど、並進せん断セルを上回る幾つかの利
92 点がある。しかし、設計上、回転せん断セルの周囲に近い試料
93 の方が、より内側にある試料より多くせん断されるので、粉体
94 層が均一にせん断されないという欠点がある。

95 いずれのせん断セル法も利点と欠点を持っているが、詳細に
96 ついては本項では触れない。粉体の流動性を評価する他の方法
97 については、文献中で多くの変法が述べられている。一般にせ
98 ん断セル法の大きな利点は、実験的により制御しやすいこと
99 である。

100 4.2. 推奨される事項

101 多種類のせん断セル装置や試験法からは豊富なデータが得ら
102 れ、粉体の流動性を評価するのに極めて効果的に利用すること
103 ができる。これらはホッパーや貯槽用容器のような装置を設計
104 する際にも有用である。本法では利用できる装置や実験操作は
105 多種多様であるので、特に標準的な方法はない。せん断セル法
106 を用いた流動性の評価の結果には、用いた装置と方法を全て記
107 載しておく。

1 5. 参考資料

2 1) Carr, R.L. Chem. Eng. 72, 163-168 (1965).

3 参考情報 G2. 物性関連 動的光散乱法による液体中の粒
4 子径測定法 を削る.5 参考情報 G3. 生物薬品関連 ペプチドマップ法 を次の
6 ように改める.

7 ペプチドマップ法〈G3-3-182〉

8 本試験法は、三薬局方での調和合意に基づき規定した試験法である。

9 三薬局方の調和合意に関する情報については、独立行政法人医薬品医
10 療機器総合機構のウェブサイトに掲載している。

11 1. はじめに

12 タンパク質は、大きく複雑な構造を有しており、不適切な会
13 合、分解又は翻訳後修飾により一次構造の不均一性を示す分子
14 もある。タンパク質は分子量が大きく複雑であるため、一つの
15 分析手法を用いてタンパク質のまま化学的に同定することは非
16 常に困難である。試料タンパク質を、十分な質量分解能で同定
17 可能なより小さな断片に切断することにより、タンパク質の一
18 次構造を決定することが可能である。この手順は、ペプチドマ
19 ップ法として一般に知られているタンパク質同定技術の原理で
20 ある。ペプチドマップ技術には、タンパク質中の特定のアミノ
21 酸残基間のアミド結合を選択的に切断し、一連の予測されたペ
22 プチドを得るための酵素消化ステップが含まれる。ペプチド混
23 合物のクロマトグラフィー分析法による分離、検出及び同定に
24 より、タンパク質の一次構造に関する情報を明らかにし、タン
25 パク質の同定が可能である。ペプチドマップ法は、相対比較の
26 手法である。つまり試料タンパク質より得られた結果は、同様
27 に処理した標準品／標準物質の結果と比較して、試料タンパク

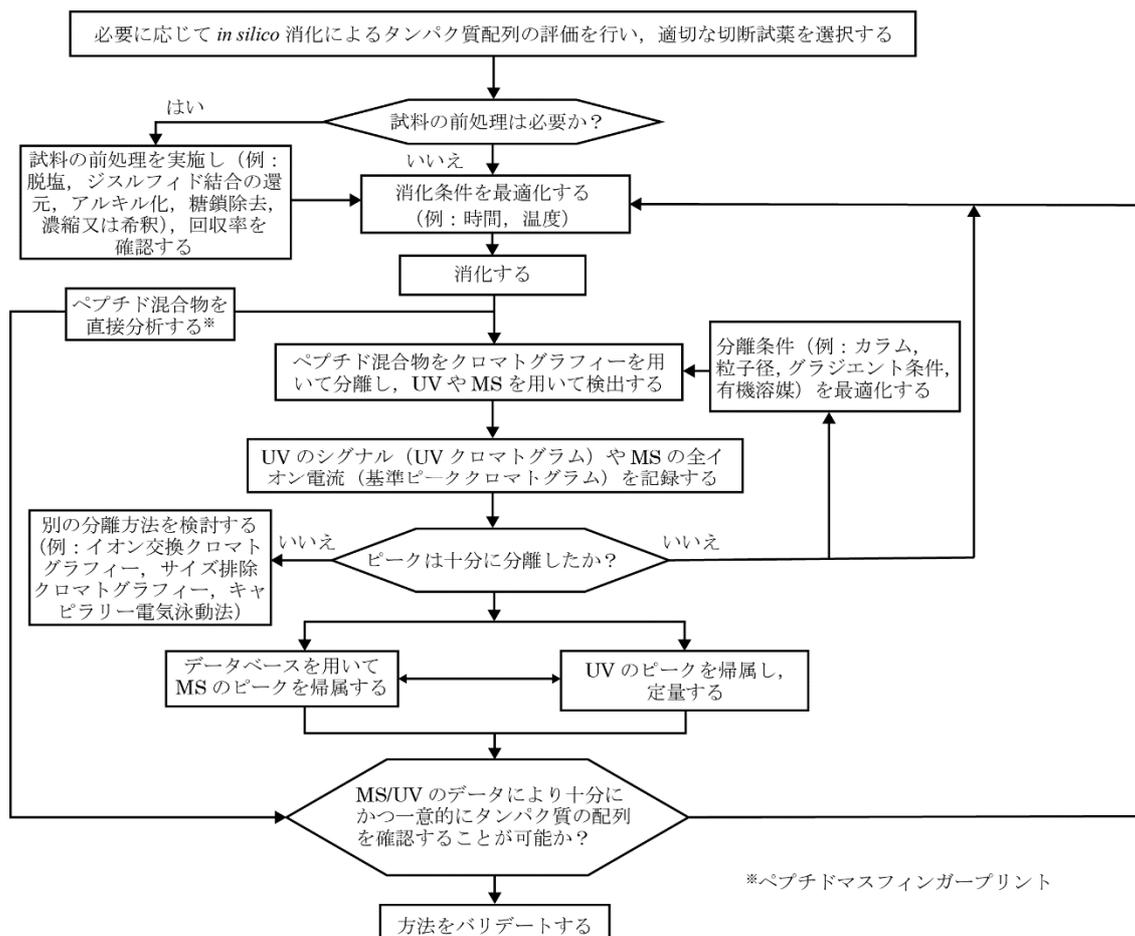
28 質を同定する。この比較による同定では、試料タンパク質の一
29 次構造が同様に処理した標準品／標準物質(参照タンパク質)の
30 一次構造と一致することを確認する。

31 本参考情報では詳細に記載していないが、ペプチドマップ法
32 は一次構造の全体的な変化を検出することが可能であり、タン
33 パク質の品質の決定のために広く応用されている。アミノ酸の
34 誤取込みやジスルフィド結合のかけ違い、翻訳後修飾及び分解
35 などに起因する試料タンパク質の純度は、定量的なペプチドマ
36 ップ法を用いて決定することができる。スケールアップや製造
37 工程変更時のペプチドマップ法による比較は、プロセスの恒常
38 性に関する検討を裏付けることができる。さらに、ペプチドマ
39 ップ法は、糖鎖付加や意図的修飾(例：PEG化)のような修飾の
40 程度と特定のアミノ酸修飾部位を決定するのに用いることがで
41 ける。本参考情報は、タンパク質医薬品の化学的な同定におけ
42 るペプチドマップ法の使用に焦点を当てており、特異性が分析
43 法の主要な特性である。

44 2. ペプチドマップ法を用いた確認試験の開発における留意事
45 項

46 確認試験の手順を開発する前に、同一施設で製造される他の
47 タンパク質医薬品と試料タンパク質を区別するために要求され
48 る適用方法や特異性のレベルについて理解することが重要であ
49 る。場合により、構造的に関連するタンパク質試料を区別する
50 ために複数の異なる手法が必要となる。それぞれのタンパク質
51 は固有の特徴を有しているため、それをよく理解し、科学的に
52 アプローチすることにより、十分な特異性を有するバリデート
53 された分析手順の開発が可能となる。分析に適した長さのペプ
54 チドを得るための前処理及び切断条件を選択するためには、試
55 料タンパク質のアミノ酸配列を評価すべきである。目的による
56 が、開発段階ではタンパク質の変化に関する予備的知識がほと
57 んどないことから、配列カバー率を十分に確保することが重要
58 である。ペプチドマップ法の分析技術の開発において、次の事項
59 を考慮すべきである。また、これらの要素を図1に示す。

60



*ペプチドマスフィンガープリント

図1 ペプチドマップ法における分析手順と目標性能パラメーターの確定

61
62
63

64 3. 前処理

65 原薬、製剤又は標準品/標準物質を分析する際、分析の妨害
66 となる添加剤やキャリアタンパク質を含む場合は分離・精製が
67 必要なことがある。残存する妨害物質は、酵素的切断の効率や
68 ペプチドマップの見込みに影響を与える場合がある。残存する
69 物質や試料精製過程が最終的なペプチドマップに及ぼす影響は、
70 開発過程において評価する必要がある。

71 タンパク質の三次構造により、切断酵素が全ての切断部位に
72 完全に作用するのを妨げられることにより、配列カバー率が不
73 十分となることがある。タンパク質のカオトロピック試薬
74 (例: 塩化グアニジウム、尿素)及び界面活性剤(例: ドデシル
75 硫酸ナトリウム)による処理は消化前にタンパク質の折りたた
76 みをほぐすために使用される。変性試薬は酵素活性に影響を及
77 ぼすため、追加の精製(例: 透析ろ過)や希釈操作が消化前
78 に必要になる場合がある。酵素が切断部位に完全に作用できる
79 ように、消化前にジスルフィド結合の還元及びアルキル化が必
80 要なこともある。しかし、システイン-システイン結合の情報
81 はその際に失われてしまう。ジスルフィド結合の還元に一般的
82 に使用される試薬には、ジチオスレイトール及びトリス(2-カル
83 ルボキシエチル)ホスフィンのようなトリアルキルホスフィン
84 化合物がある。還元されたシステインをアルキル化する試薬に
85 は、ヨードアセトアミド、ヨード酢酸及び4-ビニルピリジン
86 がある。アルキル化試薬の使用によりペプチドへの付加体が生
87 じる可能性があり、影響を受けたペプチドはクロマトグラフィー
88 の分離に影響を与え、分子量が変化する。

89 ペプチドマップ法は相対比較の手法であるため、試料タンパ
90 ク質に対して行われるいかなる精製や前処理ステップも、標準
91 品/標準物質に対しても同様に実施する必要がある。残存する
92 物質、精製手順、又はタンパク質の前処理が分析法の特異性及
93 び精度に及ぼす影響は、開発段階で精査し、分析法バリデー
94 ションにおいて実施される頑健性の検討に組み入れることを考慮
95 すべきである。

96 4. 消化

97 切断技術の選択は、タンパク質により異なる。酵素的及び化
98 学的手法において汎用される切断試薬とその特異性を表1に示
99 す。必要な場合には、他の切断試薬を使用することや方法を組
100 み合わせることもある。

101 表1 切断試薬の例

種類	試薬	特異性
酵素的 手法	トリプシン(EC 3.4.21.4)	アルギニン及びリシン残基のC末端側
	キモトリプシン(EC 3.4.21.1)	疎水性アミノ酸残基(例: ロイシン, メチオニン, アラニン, 芳香族アミノ酸)のC末端側
	ペプシンA (ペプシン)(EC 3.4.23.1)	特異性の低い消化
	リシルエンドペプチダー	リシン残基のC末端側

	ゼ(Lys-Cエンドペプチダーゼ) (EC 3.4.21.50)	
	グルタミルエンドペプチダーゼ(Glu-CエンドプロテアーゼV8プロテアーゼ) (<i>S. aureus</i> V8株由来) (EC 3.4.21.19)	グルタミン酸及びアスパラギン酸残基のC末端側
	ペプチジル-Aspメタロエンドペプチダーゼ(Asp-N エンドプロテアーゼ)(EC 3.4.24.33)	アスパラギン酸残基のN末端側
	クロストリパイン(Arg-C エンドペプチダーゼ) (EC 3.4.22.8)	アルギニン残基のC末端側
化学的手法	臭化シアン	メチオニン残基のC末端側
	2-ニトロ-5-チオシアン安息香酸	システイン残基のN末端側
	O-ヨードソ安息香酸	トリプトファン及びチロシン残基のC末端側
	希酸	アスパラギン酸及びプロリン残基
	3-ブロモ-3-メチル-2-(2-ニトロフェニルチオ)-3H-インドール(BNPS-スカトール)	トリプトファン残基

1 タンパク質消化の効率及び再現性に影響を与える因子には、
2 pH, 消化用緩衝液, 温度, 時間及びタンパク質に対する酵素
3 /試薬の比率などが含まれる。

4 最適な消化混合液のpHは, 一般に酵素又は試薬により決定
5 される。選択されたpHでのアミノ酸の側鎖及びタンパク質の
6 修飾を含むペプチドの化学的安定性を考慮しなければならない。
7 例えば, 臭化シアンを切断試薬として用いる場合は, 強酸性条
8 件(例: pH 2, 硝酸)が必要である。一方, トリプシンを切断試
9 薬として用いる場合は, 弱アルカリ性条件(pH 8)が適切である。

10 適切な温度は, 切断試薬により異なる。例えば, ほとんどの
11 酵素は25 ~ 37°Cの範囲内に最適な活性を持つ。温度は, 酵素
12 の特異性のある程度決定することがある。このような場合, 温
13 度を調整することによりある種のタンパク質に対する消化条件
14 を最適化することができる。理想的には, 脱アミドのような試
15 料に関連する化学的副反応やタンパク質凝集を最小化し, 一方
16 で, 切断試薬の活性を維持しつつ試料タンパク質の消化に対す
17 る感受性を最大化するように消化温度を設定する。

18 消化の変動を避けるために, 消化時間は意図した用途に十分
19 であることを確認することが必要である。不完全な消化による
20 ペプチド断片が最小限となるような十分な消化を確保するため
21 に, 消化の経時変化に関する簡単な検討を実施すべきである。
22 消化時間を分から日の単位で変化させ, 単一反応溶液から一定
23 量ずつとり適切に安定化し, 分析を行うことで, タンパク質の
24 完全な消化に必要な時間を決定する。

25 実用的な時間内(例: 2 ~ 20時間)で望ましいレベルの消化が
26 得られるように十分な切断試薬を用いるべきであるが, 試薬が

27 ペプチドマップに影響を与えることを避けるため切断試薬の量
28 は最小限にする。酵素消化においては, タンパク質とプロテ
29 ーゼの質量比は20:1から200:1が一般的である。切断試薬が
30 不安定な場合, 複数回に分けて切断試薬を添加することにより
31 切断効率が改善されるかもしれない。酵素は, 固相支持体に結
32 合させることで, 相対的に多量のプロテアーゼを用いることが
33 でき, 更に, 酵素の自己消化物の混入及び酵素断片のペプチド
34 マップへの影響を避けることができる。化学的な切断試薬は,
35 通常, 大過剰で用いられ, 消化終了時に除去する必要がある。
36 消化中の試料タンパク質の最適な濃度は, 経験的に決定され
37 る。タンパク質及び部分消化されたタンパク質の凝集が起こら
38 ないよう濃度は低くすべきであるが, 続くクロマトグラフィー
39 分離及び選択した検出法において, 十分な検出感度で検出され
40 なければならない。試料の希釈又は遠心過のような技術によ
41 る試料の濃縮が必要な場合もある。試料タンパク質に行われる
42 希釈又は濃縮ステップは, タンパク質医薬品の標準品/標準物
43 質にも同様に実施しなければならない。タンパク質の回収率は
44 どんな濃縮ステップにおいても評価する必要があり, 希釈又は
45 濃縮の分析法の特異性及び精度に及ぼす影響は, 開発段階で精
46 査し, 分析法バリデーションにおいて実施される頑健性の検討
47 に組み入れることを考慮すべきである。

48 消化ステップにおいて, 非特異的切断, 脱アミド化, ジスル
49 フィド結合の異性化, メチオニン残基の酸化, リシン残基のカル
50 バモイル化又はペプチドのN末端におけるグルタミンの脱ア
51 ミド化により生じたピログルタミル基の形成のような副反応の
52 結果, ペプチドマップが不明瞭になる可能性がある。自己消化
53 は, タンパク質消化酵素が酵素自体を消化することにより生じ
54 た無関係なピークをもたらす。自己消化により生じたペプチド
55 のピーク強度は, 基質に対する酵素の比率及び使用した酵素の
56 修飾と品質によって異なる。自己消化を避けるため, タンパク
57 質消化酵素試薬は, 酵素活性を抑制するpHで調製するか, 使
58 用直前に調製する。自己消化を防ぐようにプロテアーゼを改変
59 した修飾酵素が使用されることもある。酵素のリシン残基をメ
60 チル化又はアセチル化して自己消化部位の数を減少させた, 市
61 販のトリプシン試薬(しばしばプロテオミクスグレードと呼ば
62 れる)も利用可能である。消化により生じたアーティファクト
63 を同定するために, 試料タンパク質以外の全ての試薬を用いた
64 ブランクの消化試料を用いて空試験を行う。

65 5. 分離

66 消化ステップにより得られたペプチド混合物のクロマトグラ
67 フィー分離は, その複雑さを解明し, データの適切な解釈が有
68 意義で再現性のあるものとなるようにしなければならない。ペ
69 プチドマップの複雑さにより, 最終的に, 最適なクロマトグラ
70 フィー条件, カラム及び移動相の組み合わせが求められる。分
71 析法の最適化実験は, 最も質が高く再現性のあるクロマトグラ
72 ムを得るために必要となる。試料タンパク質の分子量もまた,
73 マップの複雑さと最適な分離に影響を及ぼす。

74 多くの技術(例: イオン交換高速液体クロマトグラフィー
75 [HPLC], 疎水性相互作用HPLC, 及びキャピラリー電気泳動)
76 はこれまでペプチドマップ分析におけるペプチド分離に用いら
77 れてきたが, 本参考情報ではペプチドマップ法の分離ステップ
78 において最も一般的に用いられている方法である逆相HPLC
79 (RP-HPLC)に重点を置く。

80 クロマトグラフィーにおけるカラムは, それぞれのタンパク

1 質に応じて経験的に選択される。シリカ、ポリマー又はハイブ
2 リッド担体を基にした種々の孔径(8 ~ 100 nm)又は無細孔の
3 カラムは、十分な分離を与えることが示されてきた。粒子径が
4 2 µm未満のカラムが利用でき、一般的に3 ~ 5 µmの粒子径の
5 カラムよりも分離効率がよい。一般に、オクチル又はオクタデ
6 シルシリル基を結合させた固定相がペプチドには最適である。
7 30 nm又はそれより小さな細孔を持つオクタデシルシラン
8 (C18)がペプチドマップの分離ステップで最もよく利用される
9 結合相である。

10 ペプチドのRP-HPLC分離に最も一般的な移動相は、有機溶
11 媒としてアセトニトリルを含む水である。しかし、メタノール、
12 2-プロパノール、又は1-プロパノールなどの他の有機溶媒
13 も用いることができる。移動相にプロパノールなどの溶媒を用
14 いることは、疎水性の高いペプチドを多く含む試料の分離に有
15 用である。しかし、親水性又は短いペプチドはカラムのポイド
16 容量を示す時間に溶出する可能性があることに留意する。酸、
17 塩基、緩衝塩及びイオンペア試薬のような移動相の添加剤は、
18 一般に、ペプチドの良好なクロマトグラフィー分離のために必
19 要である。最も一般的な移動相の添加剤はトリフルオロ酢酸
20 (TFA)であり、一般的には0.05 ~ 0.2%の濃度で用いられる。
21 添加剤としてリン酸の使用はあまり一般的ではないが、紫外
22 (UV)検出器を用いる場合に有用である。揮発性の酸や塩は、
23 質量分析計による検出との親和性を改善するために移動相に用
24 いることができる。TFAはペプチドの分離の質に非常に良い
25 影響を及ぼすが、質量分析計による検出の感度は、イオンサ
26 レッション効果により悪影響を受ける。ギ酸、酢酸又はこれら
27 をTFAと共に用いると、イオンサプレッションを抑制するこ
28 とにより質量分析計の感度を向上することができる。クロマト
29 グラフィーカラムの温度調節は、良好な再現性を得るために必
30 要である。逆相カラムにおいて分離は一般に温度の上昇と共に
31 向上するため、カラム温度は、ペプチド分離の最適化やある種
32 のペプチドの保持や溶出を改善するために用いられることがあ
33 る。

34 6. 検出

35 RP-HPLCは、確認試験としてのペプチドマップ法で用いら
36 れる最も一般的な分離方法であり、最も一般的な検出方法は、
37 214 nmでのUV光吸収である。タンパク質の消化により生じた
38 ペプチドは、より長波長(例: 280 nm)の光を吸収する芳香族
39 側鎖を持つアミノ酸を含まない場合があるので、タンパク質の
40 配列カバー率を確保するには、移動相によるバックグラウンド
41 を最小化するように注意し、214 nm(ペプチド結合が吸収する
42 光の波長)での検出が不可欠である。また、その他の検出方法
43 も適切である。

44 UV検出の限界は、ペプチドの構造に関する情報が得られな
45 いことである。質量分析は、ペプチドが同時に溶出した場合の
46 選択性に加えて、ペプチドの同定に役立つ質量情報を提供する
47 有用な検出方法である。ほとんどの分析目的において、RP-
48 HPLCからの溶出液は、移動相が質量分析計に適している場合
49 には、直接質量分析計に導入することができる。移動相に特有
50 の留意事項は、選択したイオン化方法による。エレクトロス
51 レイイオン化法(ESI)は、タンパク質やペプチドを質量分析計
52 に導入する最も一般的な方法であり、揮発性の水溶媒混合液を
53 用いた際に最もよいイオン化効率が得られる。ESI-MSを用い
54 たペプチドマップ法では、ポジティブイオンモードが用いられ

55 ることが多い。pHを下げ、それによりペプチドのプロトン化
56 を促進する目的で、一般にギ酸や酢酸が移動相に添加される。
57 緩衝液や塩は、シグナルを減少させることに加え、不揮発性の
58 塩がイオン源に付着するため、使用は最小限にすべきである。
59 前述のように、TFAは、マトリックス干渉の一種であるイオ
60 ンサプレッションを引き起こし、特にESIを用いた場合にペ
61 チドのシグナルを抑制する可能性があるため、避けるべきであ
62 る。また、イオンサプレッションは糖ペプチドのイオン化効率
63 を抑制し、感度を低下させる。したがって、UVとMSの両方
64 において最適な結果を得るためには、条件を最適化することが
65 重要である。

66 7. データ解析

67 ペプチドマップ法は相対比較の手法である。試料タンパク質
68 が意図するタンパク質であるかを確認するために、試料タン
69 質のペプチドマップを標準品/標準物質を同様な前処理、分
70 離及び検出方法を用いて得られたペプチドマップと比較しな
71 ければならない。保持時間、ピークレスポンス(ピーク面積又は
72 ピーク高さ)、ピーク数及び全体的な溶出パターン(視覚的な
73 比較は、手順の最初のステップである。重要なピークのピー
74 レスポンス比及びピークの保持時間について、更に客観的解析
75 を行うことが最良の方法である。もし試料タンパク質消化物及
76 び標準品/標準物質の消化物の全ての重要なピークが同じ保持
77 時間及びピークレスポンス比を示したなら、試料タンパク質の
78 同一性が確認される。例えば、モノクローナル抗体試料は、共
79 通のFcペプチドを含んでおり、ペプチドマップ試験の際には
80 参照ピークとして用いられている。参照ペプチドを試料消化物
81 に添加し、重要なピークのピークレスポンス比と保持時間をあ
82 らかじめ設定された判定基準と比較することが可能である。選
83 択される比較方法は、得られるペプチドマップの複雑さと個々
84 の確認試験の目的(例: 同一施設で製造される別のタンパク質
85 医薬品との区別や同じタンパク質医薬品の変異体との区別)に
86 において求められる特異性によって異なる。

87 高い特異性が求められる場合、質量分析を日常的な分析にお
88 いて用いることで、ペプチドの修飾、切断、切断ミス、不純物
89 及び分離されずに一つのピークとして共溶出したピークに関す
90 る知見を得ることができる。

91 8. バリデーション実施前の留意事項

92 ペプチドマップ法の手順の開発の間に、システム適合性の基
93 準及び分析法バリデーションの判定基準の選択につながる知識
94 や経験が得られる。バリデーション実施前の最終レビューによ
95 り、手順がバリデーションの準備ができていることを確認し、
96 基準を満たさないリスクを減らすことができる。一般的な手順
97 として、ペプチドマップ法は、広範囲な試験デザイン、試験目
98 的及び性能に関する要求を含んでいる。したがって、一般的な
99 文書にて、特定のシステム適合性やバリデーション基準を規定
100 することは不可能である。バリデーション開始前に次の要素に
101 ついて評価することが推奨される。

102 ペプチドマップ法の日常的な測定における質量分析の利用は
103 本参考情報には記載していないが、ペプチドマップ法の開発段
104 階におけるペプチドの構造同定に質量分析を適用することは最
105 良の方法である。質量分析による検出は、性能に関する以下の
106 パラメーターを評価するために利用される。

107 8.1. 配列カバー率

108 配列カバー率は、目的のタンパク質配列について、ペプチド

1 マップ法を用いて同定されたアミノ酸配列の割合を指す。全て
2 の分析目的に対応する特定の数値は存在しないが、多くの場合
3 95%程度の配列カバー率がペプチドマップ法において許容で
4 きる性能の目標である。

5 8.2. 特異的な結合切断

6 選択した酵素又は化学的消化手順により切断される特異的結
7 合は、同定し、記録する。

8 8.3. 主なピーク

9 特異的な結合の切断により回収された主なペプチドは、同定
10 し、記録する。

11 8.4. 部分的切断

12 部分的又は不完全な切断を生じやすいペプチド結合及び関連
13 するクロマトグラム上のピークやシグナルは同定する必要がある。
14

15 8.5. マイナー／非特異的切断

16 非特異的な結合の切断の程度は同定し、制限又は管理する必
17 要がある。

18 8.6. プロテアーゼ由来のピーク

19 プロテアーゼが試料タンパク質の消化に用いられる場合は、
20 バックグラウンドに認められるプロテアーゼ由来のピークを同
21 定し、必要に応じて制限する必要がある。

22 8.7. 未消化の「コア」タンパク質

23 未消化又は部分的に消化されたタンパク質(しばしば「コ
24 ア」と呼ばれる)は同定し、制限する必要がある。

25 8.8. 平均ペプチド長

26 選択したプロテアーゼ又は化学的切断試薬と試料タンパク質
27 の組み合わせにより生成する一連のペプチドを記述する。小さ
28 なペプチドと大きなペプチドはトレードオフの関係にある。小
29 さなペプチドは、ペプチドマップ法において高い構造選択性を
30 示すが、多くのピークを示す複雑なマップとなる。一方で、長
31 いペプチドは構造変異体を分離する能力は低くなるが単純なマ
32 ヱップが得られる。全ての分析目的に適切な特定のペプチド長は
33 存在しないが、一般的には平均ペプチド長は10～20残基が適
34 切と考えられる。

35 8.9. 分解能

36 分解能は、プロテアーゼ又は化学的切断試薬により生成した
37 一連のペプチドを分離するシステムの能力のことをいう。例え
38 ば、消化により30種類のペプチドを生じるが共溶出又は非回
39 収により20個のピークしか検出されないかもしれない。不十
40 分な分離を同定し、適切なクロマトグラフィー手順により解決
41 する必要がある。必要に応じて、ペプチド標準品／標準物質の
42 使用や、若しくはシステム性能の基準により管理する。

43 8.10. システム適合性の基準の選択

44 システム適合性の基準は、試料タンパク質の消化、分離及び
45 検出の手順が、分析目的に応じて求められるレベルの構造同定
46 が可能な能力を有することを確認できるように設定すべきであ
47 る。確認試験として日常的な分析で評価されるシステム適合性
48 の基準については、一般的に参照タンパク質消化物のクロマト
49 グラムの評価が実施されることに加え、次のような性能特性が
50 評価されることもある。

- 51 (1)参照クロマトグラムとの定性的な類似性
- 52 (2)消化の程度
- 53 (3)部分的な切断
- 54 (4)非特異的な切断

55 (5)ピーク高さ／シグナルノイズ比

56 (6)ピーク形状

57 (7)ピークの保持時間

58 (8)特定のピークの分解能

59 試料の分離、精製又は濃縮を必要とする試験方法の手順に対
60 しては、試料の回収率の基準を設定すべきであり、システム適
61 合性の評価の一部として設定するべきである。消化により生じ
62 たアーティファクトが認められる場合には、妨害のないことを
63 実証するためにブランク消化試料を評価することが必要となる。

64 9. バリデーション

65 ペプチドマップ法の手順のバリデーションを実施する前に、
66 試験操作手順は最終化しシステム適合性の基準と一緒に文書化
67 すべきである。試験を行うたびに、結果をシステム適合性の基
68 準で評価し、過去の試験結果と一致する再現性のある結果が得
69 られているかを判断する。最終化する前は、判定基準がシステ
70 ム適合性の基準によってしばしば変化することがある。分析バ
71 リデーションにおけるプロトコールの要素は次のとおりである。

72 9.1. 特異性

73 分析性能の要件は、確認試験の目的により異なり、リスクア
74 セスメントを行うことにより同一施設で製造されるタンパク質
75 医薬品と試料タンパク質を区別するためにどの程度の特異性が
76 必要かを理解する必要がある。ペプチドマップ法は、試料の一
77 次構造が参照タンパク質と一致することを確認する相対比較の
78 手法である。特異性は適切な標準品／標準物質と構造の類似し
79 たタンパク質試料のペプチドマップと比較することにより確認
80 される。比較試料は、同一施設で製造される他のタンパク質医
81 薬品に関するリスクアセスメントに基づき選択し、バリデーシ
82 ョンのプロトコールとして文書化するべきである。試験の本質
83 的なばらつきを最小化するために、試験時には標準品／標準物
84 質及び試料タンパク質に対して試験操作を実施する。特異性の
85 バリデーション試験として試料タンパク質消化物、標準品／標
86 準物質の消化物及び検体並びに標準品／標準物質の消化物の
87 1:1(v/v)混合液を分析することはペプチドマップ法の試験デ
88 ザインとして有用といえる。試料タンパク質のペプチドマップ
89 における試料タンパク質のピークと、標準品／標準物質の対応
90 するピークの保持時間が僅かに異なることにより、分析者がピ
91 ークは同一ではないと判断することがある。特異性のバリデー
92 ション試験において、混合物試料を試験しペプチドマップで共
93 溶出することにより二つのピークが同一であることを実証でき
94 れば、同一性を確認することができる。化学的に修飾された標
95 準品／標準物質は、pHや温度の条件や一次構造に変化を起こ
96 すことが知られる化学試薬への曝露により作成できる。これら
97 の変化として、アスパラギン及びグルタミン残基の脱アミド化、
98 メチオニン、ヒスチジン又はトリプトファン残基の酸化、並び
99 に酸触媒によるペプチド結合の切断などが挙げられる。化学的
100 に修飾された標準品／標準物質及び標準品／標準物質のペプチ
101 ドマップをあらかじめ決めておいた判定基準に基づいて比較す
102 ることにより、アミノ酸の側鎖の修飾がペプチドマップ法の特
103 異性に影響を及ぼすか否かを示すことができる。

104 9.2. 精度

105 ペプチドマップ法の手順の精度(併行精度、室内再現精度)の
106 測定を容易にするために、経験的に用いられているピークレス
107 ポンス(ピーク面積又はピーク高さ)及びピーク保持係数の数値
108 化の方法を手順に含むべきである。一つのアプローチとしては、

1 ピークレスポンス及びピーク保持時間を、同一のクロマトグラ
2 ム内の再現性の高い参照ピークとの相対値として比較すること
3 が挙げられる。分析手順のバリデーションで得られた精度の結
4 果は、報告の上、バリデーションの判定基準を満たすか確認を
5 行う。精度の結果が判定基準を満たさなかった場合、分析者は
6 手順中の消化や分離ステップの再評価を行う。

7 9.3. 頑健性

8 頑健性は分析手順の開発段階で評価する。繰り返して実施す
9 る必要はないが、バリデーション手順に組み込むこともある。
10 移動相の組成、プロテアーゼの品質又は化学試薬の純度、カ
11 ムのばらつき及び劣化、消化温度並びに消化物の安定性は全
12 体的な試験の性能と再現性に影響を及ぼしやすい。試験が日常
13 的なロットリリースの目的に使用される場合は、それぞれの重要
14 なパラメーターの許容範囲を評価し、基準値を定める。タン
15 パク質試料の精製、前処理、希釈又は濃縮手順の僅かな変動が回
16 収率や試験システム及びクロマトグラムに影響を及ぼすため、
17 その影響を試験法開発の時点で同定し管理する必要がある。試
18 料調製後に残存する物質の分析法の特異性及び精度に及ぼす影
19 響を考慮しなければならない。開発の際に特定された重要パラ
20 メーターは、分析法バリデーションにおいて実施される頑健性
21 の検討に含めるべきである。

22 多くのタンパク質の断片化方法では、タンパク質切断酵素が
23 用いられる。結果としてペプチドマップ法の操作における消化
24 手順は本質的に試験パラメーターの僅かな変動に影響を受けや
25 すい。これらのパラメーターとして、消化pH、緩衝液、緩衝
26 液濃度、イオン強度、消化温度、消化の反応速度、試料タン
27 パク質濃度、プロテアーゼの量、プロテアーゼの品質及び消化物
28 の安定性が挙げられる。実験計画法アプローチを用いて同定さ
29 れた重要パラメーターは、その分析におけるばらつきに及ぼす
30 影響を理解するために体系的に検討される。消化手順において、
31 僅かな変動がペプチドマップ手順の精度に影響を与えることが
32 示されたパラメーターは、これらの検討により確立されてバリ
33 デートされた操作範囲内で注意深く管理すべきである。

34 プロテアーゼの品質や化学試薬の純度を評価するため、標準
35 品/標準物質の試料を準備し、異なるロットの切断試薬で消化
36 する。それぞれの消化物に対するクロマトグラムは、ピーク面
37 積、ピーク形状及びピーク数の観点から比較する。その他の重
38 要な化学物質や、試料調製に用いられる還元剤及びS-カルボ
39 キシメチル化試薬などの前処理手順にも同様の手順を適用す
40 ることができる。

41 分離ステップに進む前に消化物を保管する時間や消化物を分
42 離前に保管する条件も評価する。単一の消化物を分注し異なる
43 保存条件で保管した後にクロマトグラフィー法で分離する。こ
44 れらのマップに有意な違いがないか評価する。

45 分離ステップにおいて、カラム間のばらつきは、単一のカ
46 ムロット内でさえもペプチドマップ法の手順の性能に影響を与
47 える。カラムのロット差を評価するため、対象タンパク質の標
48 準品/標準物質を消化し、消化物を単一製造業者からの異なる
49 ロットのカラムを用いて分析する。得られたペプチドマップは、
50 全体的な溶出プロファイル、保持時間及び分離度の観点からあ
51 らかじめ決めておいた判定基準に従い評価する。

52 頑健性の観点からカラムの寿命を評価するため、標準品/標
53 準物質の単一の消化物を注入回数歴(例：カラム当たり10～
54 250注入)の異なるカラムを用い、ペプチドマップ法の手順に

55 従い分析する。得られたペプチドマップについて、ピークの広
56 がりや全体的な分離に有意な違いがないか比較する。カラムが
57 劣化するにつれて背圧が増加し、ペプチドマップに影響を与え
58 る可能性がある。システム適合性や試験の妥当性の基準は、カ
59 ラムの劣化やその他のペプチドマップ試験の結果に影響を与え
60 る事象の診断に用いられる。

61 10. まとめ

62 ペプチドマップの分析手順は、タンパク質の分離、変性、必
63 要に応じて化学的修飾(例：スルフヒドリル基のブロッキング)、
64 タンパク質消化、ペプチドの分離及び検出、並びにデータ解析
65 を含む複数のステップからなる。それぞれのステップを開発段
66 階で最適化することにより、ペプチドマップ法を用いた確認試
67 験として適切な分析手順を開発することができる。システム適
68 合性の基準は、適切な標準品/標準物質と組み合わせること
69 により手順中の全てのステップが適切に実施され、分析手順のバ
70 リデーションと一貫性のあるペプチドマップが得られるかを評
71 価できるように選択すべきである。ペプチドマップの分析手順
72 が適切に開発され、バリデーションされ、実施されていれば、
73 タンパク質医薬品の重要品質特性である試料タンパク質の確認
74 に用いることが可能である。

75 参考情報 G3. 生物薬品関連 にフローサイトメトリー
76 を加える。

77 フローサイトメトリー 〈G3-16-182〉

78 フローサイトメトリーは、液中に分散させた細胞や粒子を
79 流路系によって整列させ、個々の光学的特性を分析する測定手
80 法である。散乱光を用いた細胞の大きさや内部構造の複雑性に
81 関する形態パラメーターのほか、蛍光標識した抗体や蛍光色素
82 などを用いて細胞を染色することにより、細胞表面や細胞内の
83 タンパク質発現、核酸量等に関する情報を、単一細胞レベルで
84 定量的に取得することが可能である。また、異なる蛍光プロー
85 ブを組み合わせることで同時に複数のパラメーターに関する情
86 報を取得することができる。生物薬品(バイオテクノロジー応
87 用医薬品/生物起源由来医薬品)の特性解析や規格及び試験方
88 法においては、目的物質の標的細胞への結合活性の評価や、細
89 胞応答の評価、生物活性試験に用いる培養細胞の適格性評価等
90 に用いられる。

91 1. 装置と測定の原理

92 フローサイトメトリーに使用される装置(フローサイトメー
93 ター)は一般に、流路系、光源、光学検出系、電子処理系(電気
94 パルス処理系)、データ処理系からなる(図1)。

95

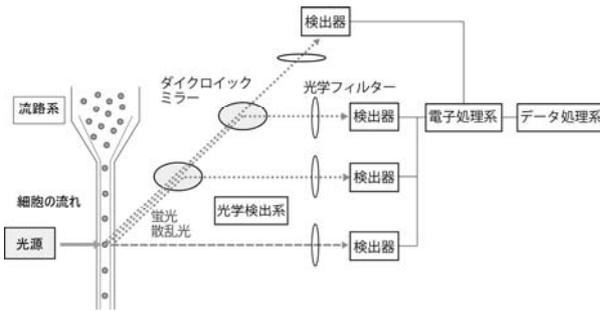


図1 フローサイトメーターの構成

1
2

3 多くのフローサイトメーターでは、細胞懸濁液は流路系によ
4 ってフローセルまで運ばれ、シース液による流体力学的絞り込
5 み(ハイドロダイナミックフォーカシング)によって細胞が一列
6 に並んだ細い流束が形成され、細胞が1個ずつ観察ポイント(レ
7 ーザー照射点)を通過する。光源としては、アルゴンレーザー
8 (488 nm)、ヘリウムネオンレーザー(633 nm)のほか、種々
9 の波長のダイオードレーザー等が複数組み合わせられて搭載さ
10 れることが一般的であり、検出しようとする蛍光に適した光源が選
11 択される。細胞がレーザー照射点を通過すると細胞の物理的構
12 造によって様々な方向への散乱光が生じるほか、蛍光色素が励
13 起されることで固有の蛍光が放出される。

14 レーザーの光軸の前方(通常は 20° 以内の角度)への散乱は前
15 方散乱光(FSC: Forward Scatter)と呼ばれ、細胞が大きいか
16 ど強くなるため、FSCを測定することにより細胞の相対的な
17 大きさを推定することができる。レーザーの光軸に対して 90°
18 方向への散乱を側方散乱光(SSC: Side Scatter)と呼ぶ。SSC
19 の強度は細胞内の顆粒の量や種類、核や細胞膜の形態等の影響
20 を受けるため、細胞構造の複雑性の指標となる(細胞の内部構
21 造の複雑性が高いほどSSC強度は高くなる)。

22 蛍光信号は光源の種類に依存して、細胞内に含まれる蛍
23 光物質や特定の解析を目的として使用した蛍光プローブ(蛍光
24 色素、蛍光標識タンパク質、蛍光タンパク質等)から生じる。
25 細胞から放出された蛍光は、光学系によって分離されて個別の
26 チャンネルで検出される。光学フィルターには、特定の波長以上
27 を通過させるロングパスフィルター、特定の波長以下を通過さ
28 せるショートパスフィルター、特定の狭い波長範囲のみを通過
29 させるバンドパスフィルターがあり、入射光に対して一定の角
30 度で設置したダイクロイックミラーと組み合わせることで、特
31 定の波長をもつ蛍光が目的のチャンネルに振り分けられる。検出
32 の特異性は光学系の設定に依存するため、検出しようとする蛍
33 光に適した組み合わせとすることが必要である。

34 光学フィルターによって振り分けられた散乱光及び蛍光は光
35 電子増倍管(PMT: Photomultiplier Tube)やフォトダイオード
36 によって検出され、電圧パルスに変換される。PMTで検出さ
37 れる電圧パルスは検出器に電圧を加えることで増幅すること
38 ができる。増幅の方法には線形(Linear)と対数(Log)の2種類があ
39 り、一般に細胞の散乱光(FSC, SSC)には線形増幅が、蛍光の
40 測定には対数増幅が使用されることが多い。試料に含まれる微
41 粒子(細胞片等の夾雑物)に由来する信号などの実験データ
42 とは無関係なデータの取得を防ぐため、通常はFSCに閾値を
43 設定する。閾値を超えない信号は全ての検出器で無視され
44 る。電圧パルスはアナログ値であり、現在使用されるフローサ
45 イトメーターの多くでは、アナログ→デジタル変換によりコン

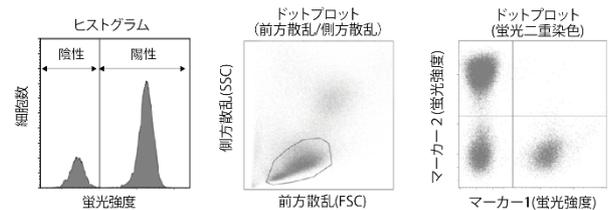
46 ピュータ上での処理が可能なデジタル値に変換される。

47 細胞の染色に2種類以上の蛍光色素を同時に使用する場合、
48 各色の蛍光スペクトルの一部が重なることがあり、この場合、
49 各蛍光検出器は意図した蛍光色素に由来する特異的な蛍光に加
50 えて他の色素が発した蛍光を検出する。このような蛍光の漏れ
51 込みの問題を解決するため、蛍光補正(コンペンセーション)を
52 実施する。試験に使用するそれぞれの蛍光色素について単独で
53 染色した試料などを用いることで、各蛍光色素の他の検出器へ
54 の漏れ込みを計算し、干渉する信号を選択的に差し引いた
55 データを取得することができる。上記のプロセスを経て個々の
56 細胞について得られた増幅・補正済みの各パラメーター(FSC、
57 SSC、蛍光)に関するデータが解析に使用される。

58 2. データ解析

59 2.1. データの表示

60 フローサイトメトリーで得られたデータは様々な方法で表
61 示・解析することができる(図2)。一般的な表示方法の一つが
62 ヒストグラムであり、X軸に一つの測定パラメーターのシグナ
63 ル強度を、Y軸に細胞数を表示する。ヒストグラムは特定のマ
64ーカー分子の発現量や発現割合の評価に有用である。また、X
65 軸とY軸にそれぞれ異なるパラメーターのシグナル強度をプロ
66 ットしたドットプロットは2種類の細胞表面マーカーを組み合
67 わせた細胞集団の特定や、その割合の評価等に用いられる。



68
69

図2 データ表示の例

70 2.2. ゲーティング

71 取得したデータの中には解析に不要な死細胞や細胞片などの
72 夾雑物、解析対象ではない細胞集団由来の信号が含まれる
73 ことがあり、目的とする細胞集団に限定した解析を行うため
74 にゲーティングを行う。通常、最初にFSCとSSCによる細胞の
75 形態学的特性に基づいたゲーティングを実施する。例えば、生
76 細胞よりもFSCが小さくSSCが大きい死細胞や細胞片は、
77 FSC/SSCプロットにおけるゲーティングにより解析対象から
78 除外することができる。また、血液サンプルの解析では、細胞
79 の大きさと複雑性の違いに基づき、FSC/SSCプロットを用い
80 てリンパ球と顆粒球を区別してゲーティングすることができる。
81 細胞表面マーカーに対する蛍光標識抗体を用いた測定では、特
82 定のマーカー分子(例えば、T細胞におけるCD3、B細胞におけ
83 るCD19など)を発現する細胞集団をゲーティングして解析す
84 ることができる。解析ソフトウェアを用いて、段階的な複数のゲ
85ーティングを設定することが可能である。ゲーティングにより
86 絞り込まれた解析対象とする細胞集団について、試験に用いた
87 蛍光標識物質が結合する細胞の割合(例えば、蛍光標識抗体が
88 認識するマーカー分子が発現する細胞の割合)、結合量の指標
89 となる平均蛍光強度などを算出する。

3. 測定時の留意事項

3.1. 装置の校正

信頼性と再現性の高いデータ取得のため、定期的に装置の校正を実施する。多くのフローサイトメーターでは、装置の製造業者から機器校正用のソフトウェアと試薬(通常は蛍光ビーズ)が提供されており、これを用いて装置の校正を実施し、機器の性能のモニタリング状況(標準ビーズから得られる蛍光強度のばらつき、検出感度の設定など)を記録する。

3.2. コントロールサンプルの使用

バックグラウンドシグナルや非特異的なシグナルの特定と適切な測定条件の設定のためにコントロールサンプルを使用する。また、コントロールサンプルは日常的な試験の適格性評価(システム適合性の判定など)にも用いられる。

未染色コントロール：解析対象とする細胞集団のゲーティング、細胞の自家蛍光によるバックグラウンドを踏まえた検出器の調整と陰性領域の設定のため、未染色のサンプルを使用する。

アイソタイプコントロール：蛍光標識抗体を用いる場合、観察された染色が目的抗原への特異的な結合によるものであることを確認するため、使用する抗体と同一のイムノグロブリンサブクラスで、解析対象とする細胞には存在しない抗原に対する抗体で染色したコントロールを用いる。アイソタイプコントロールに用いる抗体は試験に用いる抗体と同じ蛍光色素が同程度の割合で標識されていることが求められる。アイソタイプコントロールは抗体や蛍光色素の細胞への非特異的結合や、単球やマクロファージ等の免疫細胞上に存在するFc受容体への抗体結合のようなバックグラウンドの評価に用いられる。

単一染色コントロール：複数種類の蛍光色素を用いた試験を実施する際には、異なる蛍光色素間の漏れ込みを評価して蛍光補正を行うため、試験に用いる各蛍光色素について、単独で染色したコントロールを使用する。

FMO (Fluorescence Minus One)コントロール：FMOコントロールは、染色に用いる全ての蛍光色素から一つの蛍光色素だけを除いたコントロールである。欠けている蛍光色素のチャンネルへの他の蛍光色素の漏れ込みから、蛍光補正が正しく行われていることを確認する。陰性/陽性画分を判定するゲーティングの設定にも使用できる。

生物学的コントロール(アッセイコントロール)：上記の染色に関するコントロールとは別に、実施する試験に対応する陽性コントロール及び陰性コントロールとなる試料を調製する。例えば、細胞応答に伴うマーカー分子の発現量の変化を測定する試験では、未処理/未刺激のサンプルや確実に細胞応答が生じることが既知の処理を施したサンプルをコントロールとして使用する。これらのアッセイコントロールの測定データはシステム適合性の判定に用いることができる。

3.3. 測定条件の設定

試料測定の際には、検出しようとする蛍光に適した光学系を選択し、コントロールサンプルを用いて検出器の感度、ゲーティング、蛍光補正を設定する。通常、最初にFSC/SSCプロットにおいて解析対象とする細胞集団が適切に表示されるようにFSCとSSCの検出感度を調整し、解析対象の細胞集団をゲーティングする。次に検出しようとする蛍光パラメーターについてヒストグラムやドットプロットを展開し、未染色コントロールや陽性・陰性コントロールにおいて検出される蛍光が測定範囲内に含まれるように検出器の感度を調整する。検出される蛍

光強度の値はレーザーの出力等によって変動する相対的な値であり、コントロールサンプルの蛍光強度があらかじめ定められた範囲内になるように検出器の感度を設定することは、再現性を担保する上で有用である。複数の蛍光色素を用いた多重染色サンプルを分析する場合は、単一染色コントロールやFMOコントロールを用いてそれぞれの蛍光の他の検出器への漏れ込みを評価し、解析結果に影響しないように蛍光補正を設定する。陽性画分の割合(マーカー分子の発現割合等)を算出する場合には、コントロールサンプルの蛍光強度を指標として、陽性・陰性画分を区別できるようにゲーティングを設定する。アッセイコントロール等を用いたシステム適合性を設定し、日常的な試験における測定条件が適切であることを確認する。

3.4. 細胞と試薬の管理

使用する細胞や染色に用いる蛍光標識抗体などは試験の性能や結果に影響を及ぼす重要試薬であるため、適格性を評価するための項目と判定基準を定め、適切な方法で管理する。細胞は培養経過により形質の変化が生じる可能性があるため、セルバンクシステムを構築し、培養方法や継代回数の上限、試験時の細胞の状態に関する規定(細胞生存率など)を定めて使用する。特定の受容体等を標的とする試験に用いる場合には、標的受容体の発現量を規格として定めて管理する。試験実施時には、アッセイコントロールを用いて、使用した細胞が期待される細胞応答を示すことを試験ごとに確認することも重要である。染色に用いる蛍光標識抗体や細胞の刺激に用いるサイトカイン等は用途への適合性を確認した上で使用する。タンパク質試薬は市販品であってもロットごとに比活性が異なることがあるため、ロット更新時には新旧ロットの比較を行い、必要に応じて添加濃度を調整して試験に使用する。

4. 生物薬品の試験における使用例

4.1. 目的物質の標的細胞への結合活性の評価

目的物質が細胞表面に存在する標的タンパク質と結合して薬理作用を発揮する場合(細胞膜タンパク質を標的とする抗体、ホルモン・サイトカイン類など)、フローサイトメトリーにより標的分子を発現する細胞に対する目的物質の結合活性を評価することができる。細胞を用いた結合試験は、より生理的な条件下で細胞膜上に存在する標的タンパク質に対する結合活性を評価できるという利点を有しており、組換えタンパク質の精製が困難な複数回膜貫通タンパク質に対する結合試験にも有用である。一方で、試験に用いた細胞に存在する本来の標的以外の分子への非特異的結合が生じる可能性もあり、検出される結合の特異性について留意する必要がある。

測定方法としては、他の原理の結合試験と同様に非競合法あるいは競合法が使用される。非競合法では、目的物質に対する蛍光標識抗体(例えば、抗体医薬品に対する蛍光標識抗ヒトIgG抗体)を用いて、標的細胞への目的物質の結合を検出する。競合法では、蛍光標識した標準物質等と試料を混合して標的細胞に添加し、蛍光標識体の標的細胞への結合に対する試料の阻害活性を測定する。適切な希釈倍数で調製した試料の希釈系列について試験を行って得られたシグナル(平均蛍光強度)から用量反応曲線を作成し、最大反応の50%に相当するシグナルを与える用量(非競合法ではEC₅₀、競合法ではIC₅₀)を算出する。標準物質に対する相対活性を求める場合には、標準物質と試料についてそれぞれ用量反応曲線を作成し、EC₅₀あるいはIC₅₀の比を算出する。

4.2. 細胞応答の評価

細胞刺激に伴う細胞応答として細胞表面マーカー分子の発現量の増加や減少が認められる場合、フローサイトメトリーによって定量的に発現変動を解析することができる。受容体を介した細胞応答を誘導するホルモン・サイトカイン類のほか、細胞応答を促す液性因子やその受容体を標的とする中和抗体の生物活性評価にも使用される。試料を添加して一定時間培養する等の処理を施した細胞をマーカー分子に対する蛍光標識抗体を用いて染色し、マーカー分子の発現する細胞の割合や、発現量を測定する。

4.3. 生物活性試験に用いる培養細胞の適格性評価

フローサイトメトリーは、生物活性試験に用いる細胞における受容体などの標的タンパク質の発現確認のための有用な手法の一つである。培養細胞はクローン化された株化細胞であっても不均一な遺伝子発現パターンを示すことがあり、培養期間の経過により形質が変化する可能性がある。また、標的タンパク質を発現させるために遺伝子導入により作製した細胞株では、導入遺伝子の欠落やサイレンシングによる標的タンパク質の発現の消失や低下が生じる可能性について考慮する必要がある。標的タンパク質に対する蛍光標識抗体を用いた染色により、標的タンパク質の発現割合や発現量を測定し、あらかじめ定められた基準に適合することを確認する。

参考情報 G3. 生物薬品関連 にフローイメージング法によるバイオテクノロジー応用医薬品(バイオ医薬品)原薬/製剤中の不溶性微粒子の評価法 を加える。

フローイメージング法によるバイオテクノロジー応用医薬品(バイオ医薬品)原薬/製剤中の不溶性微粒子の評価法 (G3-17-182)

バイオテクノロジー応用医薬品(以下「バイオ医薬品」という。)には、外来性の物質、製造工程に由来する物質及び処方成分や一次容器からの溶出物に加えて、タンパク質それ自身が凝集してできたタンパク質凝集体などの不溶性微粒子が含まれる可能性がある。注射剤に含まれる微粒子を評価・管理することは、最終製品の品質を確保する上で重要であるが、タンパク質凝集体については、タンパク質製剤の免疫原性に影響する可能性が懸念されており、より厳密な評価・管理が求められる。

フローイメージング法は、試料溶液をフローセルに導入し、連続的に画像を撮影し、得られたデジタル画像を数値情報に変換して解析することにより、溶液に含まれる微粒子の計数、粒子径分布の測定、形状及び光学的特性の評価を行う手法である。光遮蔽粒子計数法では屈折率の高いポリスチレン標準粒子を用いて得られた粒径応答曲線により粒子径が算出されるため、水との屈折率の差が小さいタンパク質凝集体は検出されないか小さく検出される恐れがある。一方でフローイメージング法は光遮蔽粒子計数法と比較して、溶媒と粒子との屈折率差の影響を受けづらいことが示されている。また、形状及び光学的特性を評価することにより、タンパク質凝集体、シリコン油、気泡及びその他の不溶性微粒子を区別できる場合もある。フローイメージング法による粒子数の定量的評価や含まれる粒子の特性

解析は、タンパク質医薬品の不溶性微粒子の評価方法として有用と考えられる。本参考情報では主に、タンパク質医薬品注射剤などバイオ医薬品に含まれる不溶性微粒子の評価法について記載する。

1. 測定の原理

装置は、一般に、試料導入部、画像を取得する領域であるフローセル、各部位をつなぐ流路、ポンプ(チューブポンプやシリンジポンプ)、光源を含む光学系、撮像装置であるカメラ及び取得した画像を解析する画像解析装置などからなる。フローセルに流れてきた試料溶液に光源より光が照射され、撮像装置により画像が取得される。測定可能な粒子径はフローセルの厚さと対物レンズの倍率、カメラの性能などにより規定され、多くの場合、測定範囲は約2 ~ 100 μm 程度である。粒子画像データは画像解析装置によって処理され、例えば画像の背景部分と粒子部分の濃淡に基づいて画像中の粒子の境界が認識され、粒子個々の形状及び光学的特性の評価が行われる。微粒子の計数値を測定体積で除することで粒子濃度が求められる。

2. 測定

2.1. 装置

測定は、一般に次の手順で行われる。対物レンズの倍率は測定する粒子の大きさに応じたものを使用し、通常、4 ~ 20倍の対物レンズが使用される。測定前に、フローセルを洗浄し、フローセル内にとどまっている粒子がないことを確認する。なお、セルの洗浄には微粒子を含まない水の他、必要に応じて洗剤や薄めた水酸化ナトリウム溶液、エタノールなどを使用できる。その後、装置の使用手順に定められた方法にて焦点を適切に合わせる。装置ごとに必要な測定条件(流量、測定容量、画像取得頻度、背景から粒子を区別するための閾値など)を設定する。フローセルに導入された溶液のうち実際に画像解析された割合を画像取得効率という。画像取得効率を設定できる装置の場合、画像取得効率は、測定容量、流量、画像取得頻度から算出され[画像取得効率=画像取得頻度(frames/s)×画像一枚当たりの測定容量(mL/frame)/流量(mL/s)×100 (%)]、同じ粒子が複数回計数されないように、また、実際に測定される容量が十分となるよう、適切に設定する。測定領域を設定できる場合、計数の正確性は、計数標準粒子を測定することにより確認できる。さらに、測定の原理上、粒子の一部が測定領域に収まらず、一部が欠けた粒子画像が得られることが想定される。部分的に撮像された粒子の取扱については事前に設定しておく。

2.2. 操作法

試験は外部から微粒子が混入しない条件下、できれば層流等により清浄度の保たれたキャビネット中で行う。試料は、含まれる粒子が均一になるように、例えば容器をゆっくりと回転させるなど、穏やかに十分に振り混ぜる。容器を開封する際には、必要に応じて容器開口部の外表面を微粒子試験用水で洗浄し、内部が汚染されないよう注意して栓を開ける。溶液中に存在する微粒子を測定するにあたり、操作中に気泡や新たな凝集を引き起こさないように注意が必要である。必要に応じて、気泡を除くために、容器を大気圧下にしばらく放置する、又は減圧して放置する。超音波処理はタンパク質を凝集、変性させるおそれがあることから、適切ではない。装置に導入する試料の液量は、測定容量と風袋容量を考慮して決定する。測定容量は、試料の特性、画像取得効率及び求める分析法の精度等を考慮して十分な容量とする。試料の粘度が高い、粒子数が多いなど、必

1 要な場合は、希釈直線性を確認し、試料を希釈することも可能
2 である。測定回数は装置の性能及び試料の特性を考慮し適切に
3 設定する。

4 閾値は、分析結果に大きな影響を及ぼすので、閾値を個別に
5 設定できる装置を使用する場合は、事前に粒子境界が適切に認
6 識されていることを確認する。その際、実試料若しくは実試料
7 を劣化させた試料、又はタンパク質凝集体を模して作製された
8 標準粒子などを使って、粒子の形状が正しく評価されているこ
9 と、ノイズを粒子として認識していないことも確認することが
10 望ましい。なお、異なる閾値で取得したデータを比較する際は、
11 閾値の差が測定結果に与える影響を十分に考慮する必要がある。

12 3. 画像解析

13 検出した粒子の粒子径は、円相当径(粒子の投影面積と等し
14 い面積をもつ円の直径)にて示されることが多い。円相当径の
15 ほかに、球相当径やフェレー径などが使用できるため、粒子径
16 の比較には注意する必要がある。

17 本参考情報はフローイメージング法による微粒子の計数を主
18 な対象にしているが、粒子の画像から由来を推定することや、
19 画像の特徴に応じて粒子を分類できる場合もある。画像解析の
20 結果得られる、粒子の特性を表すパラメーターの主なものには、
21 粒子径の他、面積、粒子周囲長、アスペクト比、円形度などの
22 形状に関するパラメーターの他、明暗度や粒子内での明暗度の
23 標準偏差といった光学的なパラメーターがある。これらのパラ
24 メーターを使って、例えば、試料に含まれる粒子を、容器に由
25 来するシリコーン油滴など由来ごとに分類することも可能であ
26 る。シリコーン油滴との区別には、アスペクト比、真円度、周
27 囲長、長さ、明暗度の平均値や標準偏差などが用いられる。各
28 パラメーターを組み合わせ、最適な閾値を設定し、段階的にふ
29 るい分ける。蓄積した十分な画像データを使って分類モデルを
30 構築し、同じ装置で取得した画像データに適用することで、検
31 出された粒子を由来ごとに分類することも可能と考えられる。
32 ただし、これらのパラメーターは撮像装置や解析ソフトに組み
33 込まれた定義式、画像解析装置のシステム及び測定条件に依存
34 し、解像度や画素数、焦点の合わせ方によって測定値が異なる
35 可能性のあること、由来の特定には顕微ラマン分光法など分子
36 構造や組成情報の得られる適切な他の技術による分析が必要な
37 ことに留意する。

38 4. 分析法バリデーション

39 分析法バリデーションでは一般に、真度、精度、特異性(選
40 択性)などで表現される分析能パラメーターが、事前に定めた
41 基準を満たしていることを実証することにより、分析法の妥当
42 性が示される。評価すべき分析能パラメーターは、分析法が用
43 いられる試験法の目的によって異なる。医薬品中の不溶性微粒
44 子を計数する試験法の場合は、実試料を反映した真度既知の分
45 析対象がなく、真度既知の分析法を使った評価が難しいこと、
46 また製剤や原薬など実試料に含まれる微粒子は粒子径分布が
47 広く均質ではないため、通常の定量試験と同様に分析法バリデ
48 ーションを行うことは難しい。したがって、例えば、平均粒子
49 径が値付けされたポリスチレン標準粒子や、粒子径と粒子濃度
50 が値付けされたポリスチレン計数標準粒子を使って以下のバリ
51 デーション手順例に示す分析能パラメーターを評価することで
52 妥当性が示される。用いる標準粒子及び計数標準粒子の粒子濃
53 度や粒子径は、実試料に含まれる粒子濃度や粒子径分布、規格
54 値などを考慮して適切に設定する。粒子径の異なる複数の標準

55 粒子を使うことも、分析法の性能を評価するのに有効である。
56 なお、適切な機関により認証され、粒子径分布若しくは粒子数
57 が保証されている標準粒子を用いる。この他、屈折率が低いシ
58 リカ粒子やポリメチルメタクリレート粒子は、タンパク質凝集
59 体のモデル粒子として適切な場合もあると考えられ、処方成分
60 が試験対象試料と同様の溶液に添加した試料は、粒子と溶液の
61 屈折率の差が小さいことで計測される粒子径が変動するか確認
62 するのに有用と考えられる。

63 フローイメージング法により微粒子数を計数する場合のバリ 64 デーション手順例

65 真度：5、10及び25 µmポリスチレン計数標準粒子を測定し、
66 認証された粒子径及び粒子濃度の範囲内であることを確認する。

67 精度：併行精度及び室内再現精度を評価する。併行精度は、
68 微粒子を含まない水又は処方成分が試験対象試料と同様の溶液
69 に、3水準の粒子濃度となるよう5、10及び25 µmの標準粒子
70 を添加した試料について各々3回測定を繰り返すことにより求
71 める。室内再現精度については、同様に調製した試料について、
72 少なくとも試験日と試験者を変更した条件で測定を行って算出
73 する。

74 直線性：微粒子を含まない水又は処方成分が試験対象試料と
75 同様の溶液に5、10及び25 µmの標準粒子を添加し、例えば5
76 水準の粒子濃度について直線性を評価する。

77 特異性：モデルを使って粒子を分類するなどが必要な場合、
78 実試料を劣化させた試料及び目的とする分析対象物を実試料に
79 添加し、適切に分類できていることを確認する。

80 5. 装置性能の管理

81 5.1. 校正

82 フローイメージング法で算出される粒子径や粒子数は、標準
83 粒子の測定値から算出される相対的な値ではなく、測定の原理
84 に基づいた絶対的な値であるが、計数標準粒子を使って装置が
85 正しく稼働していることを確認し、必要に応じて装置側の設定
86 を調節する必要がある。光学系の確認は必須であり、焦点が正
87 しく合っていること、光源の明るさが適切であることなどを確
88 認する。また、ポンプの性能も測定結果に影響し得るため、流
89 量の調節と流量確認を実施する。なお、装置校正には、適切な
90 機関により認証され、絶対的な方法により粒子径分布及び粒子
91 数が保証されているポリスチレン計数標準粒子及びポリスチレ
92 ン標準粒子を用いる。

93 5.2. システム適合性

94 測定実施前に装置の稼働状態が適切であること、適切に洗浄
95 されていることを確認するため、以下のようなシステム適合性
96 を設定することが推奨される。

97 適切な標準粒子の測定値(粒子径及び粒子数)があらかじめ定
98 めた範囲内にあることを確認する。フィルターを通した水(用
99 時調製)で、粒子数が規定した値以下であることを確認する。
100 粒子径の範囲は、目的に応じて適切な範囲とする。粒子数が適
101 切な範囲内でなかった場合は、使用する水の調製及び装置の洗
102 浄を繰り返し、再測定する。

103

1 参考情報 G5. 生薬関連 日本薬局方収載生薬の学名表記
2 について を次のように改める。

3 日本薬局方収載生薬の学名表記について
4 〈G5-I-182〉

5 日本薬局方収載生薬の基原植物、藻類、真菌類及び基原動物
6 の学名表記法は、論文等で使用される分類学的に用いられる学
7 名表記と若干異なっている。これは、日局が学術書ではなく法
8 令であるために生じる問題である。日局での学名表記と、分類

9 学的に通常使用される学名表記との不一致について、日局利用
10 者の誤解を避けるため、本表に、日局で表記した学名と分類学
11 的に通常使用される学名表記との関係を示す。また、日局に記
12 載されている植物の科名は、新エングラの分類体系に基づく
13 ものが採用されている。1998年に、DNAの塩基配列情報に基
14 づくAPGの分類体系が発表されて以降、数度の改訂を経て、
15 植物分類学では現在、主にAPGの分類体系が用いられている
16 ことから、新エングラとAPGの分類体系における科名の関
17 係を併記する。

18 なお、APGの分類体系の対象外である裸子植物、藻類、真
19 菌類及び動物については、米倉⁹⁾及びGBIF²⁰⁾に従った。

20 日本薬局方の学名表記と分類学的に用いられる学名表記

生薬名	日本薬局方の学名表記 =分類学的に用いられている学名表記 ^{3,4)} 日本薬局方の学名表記とは異なるが分類学的に同一あるいは同一とみなされることあるもの 及び収載種に含まれる代表的な下位分類群。*印のあるものは、日本薬局方で併記されている もの。	科名 日本薬局方の表記	科名 APG IV など ^{1,2,5,6)}
アカメガシワ	アカメガシワ <i>Mallotus japonicus</i> Müller Argoviensis = <i>Mallotus japonicus</i> (Thunb.) Müll. Arg.	<i>Euphorbiaceae</i>	<i>Euphorbiaceae</i>
アセンヤク	<i>Uncaria gambir</i> Roxburgh = <i>Uncaria gambir</i> (Hunter) Roxb.	<i>Rubiaceae</i>	<i>Rubiaceae</i>
アヘン末	ケシ <i>Papaver somniferum</i> Linné = <i>Papaver somniferum</i> L.	<i>Papaveraceae</i>	<i>Papaveraceae</i>
アマチャ	アマチャ <i>Hydrangea macrophylla</i> Seringe var. <i>thunbergii</i> Makino = <i>Hydrangea macrophylla</i> (Thunb.) Ser. var. <i>thunbergii</i> (Siebold) Makino	<i>Saxifragaceae</i>	<i>Hydrangeaceae</i>
アラビアゴム	<i>Acacia senegal</i> Willdenow = <i>Acacia senegal</i> (L.) Willd. その他同属植物	<i>Leguminosae</i>	<i>Leguminosae</i> / <i>Fabaceae</i>
アロエ	<i>Aloe ferox</i> Miller = <i>Aloe ferox</i> Mill. <i>Aloe ferox</i> Miller と <i>Aloe africana</i> Miller との種間雑種 <i>Aloe africana</i> Miller = <i>Aloe africana</i> Mill. <i>Aloe ferox</i> Miller と <i>Aloe spicata</i> Baker との種間雑種	<i>Liliaceae</i>	<i>Asphodelaceae</i>
アンソッコウ	<i>Styrax benzoin</i> Dryander = <i>Styrax benzoin</i> Dryand. その他同属植物	<i>Styracaceae</i>	<i>Styracaceae</i>
イレイセン	<i>Clematis mandshurica</i> Ruprecht = <i>Clematis mandshurica</i> Rupr. サキシマボタンヅル <i>Clematis chinensis</i> Osbeck <i>Clematis hexapetala</i> Pallas = <i>Clematis hexapetala</i> Pall.	<i>Ranunculaceae</i>	<i>Ranunculaceae</i>
インチンコウ	カワラヨモギ <i>Artemisia capillaris</i> Thunberg = <i>Artemisia capillaris</i> Thunb.	<i>Compositae</i>	<i>Compositae</i> / <i>Asteraceae</i>
インヨウカク	キバナイカリソウ <i>Epimedium koreanum</i> Nakai イカリソウ <i>Epimedium grandiflorum</i> Morren var. <i>thunbergianum</i> Nakai = <i>Epimedium grandiflorum</i> Morr. var. <i>thunbergianum</i> (Miq.) Nakai <i>Epimedium pubescens</i> Maximowicz = <i>Epimedium pubescens</i> Maxim. <i>Epimedium brevicornu</i> Maximowicz = <i>Epimedium brevicornu</i> Maxim. <i>Epimedium wushanense</i> T. S. Ying ホザキイカリソウ <i>Epimedium sagittatum</i> Maximowicz = <i>Epimedium sagittatum</i> (Siebold & Zucc.) Maxim. トキワイカリソウ <i>Epimedium sempervirens</i> Nakai	<i>Berberidaceae</i>	<i>Berberidaceae</i>
ウイキョウ	ウイキョウ <i>Foeniculum vulgare</i> Miller = <i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	<i>Umbelliferae</i>	<i>Umbelliferae</i> / <i>Apiaceae</i>
ウイキョウ油	ウイキョウ <i>Foeniculum vulgare</i> Miller = <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. <i>Illicium verum</i> Hooker filius = <i>Illicium verum</i> Hook. f.	<i>Umbelliferae</i> <i>Illiciaceae</i>	<i>Umbelliferae</i> / <i>Apiaceae</i> <i>Schisandraceae</i>
ウコン	ウコン <i>Curcuma longa</i> Linné = <i>Curcuma longa</i> L.	<i>Zingiberaceae</i>	<i>Zingiberaceae</i>

ウヤク	テンダイウヤク <i>Lindera strychnifolia</i> Fernandez-Villar = <i>Lindera strychnifolia</i> (Siebold & Zucc.) Fern.-Vill. ----- <i>Lindera aggregata</i> (Sims) Kosterm.	<i>Lauraceae</i>	<i>Lauraceae</i>
ウフウルシ	クマコケモモ <i>Arctostaphylos uva-ursi</i> Sprengel = <i>Arctostaphylos uva-ursi</i> (L.) Spreng.	<i>Ericaceae</i>	<i>Ericaceae</i>
エイジツ	ノイバラ <i>Rosa multiflora</i> Thunberg = <i>Rosa multiflora</i> Thunb.	<i>Rosaceae</i>	<i>Rosaceae</i>
エンゴサク	<i>Corydalis turtschaninovii</i> Besser forma <i>yanhusuo</i> Y. H. Chou et C. C. Hsu = <i>Corydalis turtschaninovii</i> Besser f. <i>yanhusuo</i> (W. T. Wang) Y. H. Chou & C. C. Hsu ----- <i>Corydalis yanhusuo</i> W. T. Wang	<i>Papaveraceae</i>	<i>Papaveraceae</i>
オウギ	<i>Astragalus mongholicus</i> Bunge ----- <i>Astragalus membranaceus</i> (Fisch.) Bunge var. <i>mongholicus</i> (Bunge) Hsiao キバナオウギ <i>Astragalus membranaceus</i> Bunge = <i>Astragalus membranaceus</i> (Fisch.) Bunge	<i>Leguminosae</i>	<i>Leguminosae</i> / <i>Fabaceae</i>
オウゴン	コガネバナ <i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi	<i>Labiatae</i>	<i>Labiatae</i> / <i>Lamiaceae</i>
オウセイ	<i>Polygonatum kingianum</i> Collett et Hemsley = <i>Polygonatum kingianum</i> Collett & Hemsli. カギクマバナルコユリ <i>Polygonatum sibiricum</i> Redouté ----- <i>Polygonatum cyrtoneura</i> Hua ナルコユリ <i>Polygonatum falcatum</i> A. Gray	<i>Liliaceae</i>	<i>Asparagaceae</i>
オウバク	キハダ <i>Phellodendron amurense</i> Ruprecht = <i>Phellodendron amurense</i> Rupr. ----- ヒロハキハダ <i>Phellodendron amurense</i> Rupr. var. <i>sachalinense</i> F. Schmidt オオバナキハダ <i>Phellodendron amurense</i> Rupr. var. <i>japonicum</i> (Maxim.) Ohwi ミヤマキハダ <i>Phellodendron amurense</i> Rupr. var. <i>lavallei</i> (Dode) Sprague ----- <i>Phellodendron chinense</i> Schneider = <i>Phellodendron chinense</i> C. K. Schneid.	<i>Rutaceae</i>	<i>Rutaceae</i>
オウヒ	ヤマザクラ <i>Prunus jamasakura</i> Siebold ex Koidzumi = <i>Prunus jamasakura</i> Siebold ex Koidz. カスミザクラ <i>Prunus verecunda</i> Koehne = <i>Prunus verecunda</i> (Koidz.) Koehne	<i>Rosaceae</i>	<i>Rosaceae</i>
オウレン	オウレン <i>Coptis japonica</i> Makino = <i>Coptis japonica</i> (Thunb.) Makino セリバオウレン <i>Coptis japonica</i> (Thunb.) Makino var. <i>dissecta</i> (Yatabe) Nakai キクバオウレン <i>Coptis japonica</i> (Thunb.) Makino var. <i>japonica</i> コセリバオウレン <i>Coptis japonica</i> (Thunb.) Makino var. <i>major</i> (Miq.) Satake ----- <i>Coptis chinensis</i> Franchet = <i>Coptis chinensis</i> Franch. ----- <i>Coptis deltoidea</i> C. Y. Cheng et Hsiao ----- <i>Coptis teeta</i> Wallich = <i>Coptis teeta</i> Wall.	<i>Ranunculaceae</i>	<i>Ranunculaceae</i>
オリブ油	<i>Olea europaea</i> Linné = <i>Olea europaea</i> L.	<i>Oleaceae</i>	<i>Oleaceae</i>
オレンジ油	<i>Citrus</i> 属諸種植物	<i>Rutaceae</i>	<i>Rutaceae</i>
オンジ	イトヒメハギ <i>Polygala tenuifolia</i> Willdenow = <i>Polygala tenuifolia</i> Willd.	<i>Polygalaceae</i>	<i>Polygalaceae</i>
ガイヨウ	ヨモギ <i>Artemisia princeps</i> Pampanini = <i>Artemisia princeps</i> Pamp. オオヨモギ <i>Artemisia montana</i> Pampanini = <i>Artemisia montana</i> (Nakai) Pamp.	<i>Compositae</i>	<i>Compositae</i> / <i>Asteraceae</i>
カカオ脂	カカオ <i>Theobroma cacao</i> Linné = <i>Theobroma cacao</i> L.	<i>Sterculiaceae</i>	<i>Malvaceae</i>
カゴソウ	ウツボグサ <i>Prunella vulgaris</i> Linné var. <i>lilacina</i> Nakai = <i>Prunella vulgaris</i> L. var. <i>lilacina</i> Nakai	<i>Labiatae</i>	<i>Labiatae</i> / <i>Lamiaceae</i>
カシュウ	ツルドクダミ <i>Polygonum multiflorum</i> Thunberg = <i>Polygonum multiflorum</i> Thunb.	<i>Polygonaceae</i>	<i>Polygonaceae</i>
ガジュツ	ガジュツ <i>Curcuma zedoaria</i> Roscoe ----- <i>Curcuma phaeocaulis</i> Valetton ----- <i>Curcuma kwangsiensis</i> S. G. Lee et C. F. Liang	<i>Zingiberaceae</i>	<i>Zingiberaceae</i>
カッコウ	<i>Pogostemon cablin</i> Benthham = <i>Pogostemon cablin</i> (Blanco) Benth.	<i>Labiatae</i>	<i>Labiatae</i> / <i>Lamiaceae</i>
カッコン	クズ <i>Pueraria lobata</i> Ohwi = <i>Pueraria lobata</i> (Willd.) Ohwi	<i>Leguminosae</i>	<i>Leguminosae</i> / <i>Fabaceae</i>
カノコソウ	カノコソウ <i>Valeriana fauriei</i> Briquet = <i>Valeriana fauriei</i> Briq. ----- エゾカノコソウ <i>Valeriana fauriei</i> Briq. f. <i>yezoensis</i> Hara	<i>Valerianaceae</i>	<i>Caprifoliaceae</i>

カルナウバロウ	カルナウバヤシ <i>Copernicia cerifera</i> Martius = <i>Copernicia cerifera</i> Mart.	<i>Palmae</i>	<i>Palmae</i> / <i>Areceae</i>
カロコン	<i>Trichosanthes kirilowii</i> Maximowicz = <i>Trichosanthes kirilowii</i> Maxim.	<i>Cucurbitaceae</i>	<i>Cucurbitaceae</i>
	キカラスウリ <i>Trichosanthes kirilowii</i> Maximowicz var. <i>japonica</i> Kitamura = <i>Trichosanthes kirilowii</i> Maxim. var. <i>japonica</i> (Miq.) Kitam.		
	オオカラスウリ <i>Trichosanthes bracteata</i> Voigt = <i>Trichosanthes bracteata</i> (Lam.) Voigt		
カンキョウ	ショウガ <i>Zingiber officinale</i> Roscoe	<i>Zingiberaceae</i>	<i>Zingiberaceae</i>
カンゾウ	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fischer = <i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch.	<i>Leguminosae</i>	<i>Leguminosae</i> / <i>Fabaceae</i>
	<i>Glycyrrhiza glabra</i> Linné = <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.		
カンテン	マクサ(テングサ) <i>Gelidium elegans</i> Kuetzing	<i>Gelidiaceae</i>	<i>Gelidiaceae</i> #
	その他同属植物		
	諸種紅藻類		
キキョウ	キキョウ <i>Platycodon grandiflorus</i> A. De Candolle = <i>Platycodon grandiflorus</i> (Jacq.) A. DC.	<i>Campanulaceae</i>	<i>Campanulaceae</i>
キクカ	シマカンギク <i>Chrysanthemum indicum</i> Linné = <i>Chrysanthemum indicum</i> L.	<i>Compositae</i>	<i>Compositae</i> / <i>Asteraceae</i>
	キク <i>Chrysanthemum morifolium</i> Ramatuelle = <i>Chrysanthemum morifolium</i> Ramat.		
キササゲ	キササゲ <i>Catalpa ovata</i> G. Don	<i>Bignoniaceae</i>	<i>Bignoniaceae</i>
	<i>Catalpa bungei</i> C. A. Meyer = <i>Catalpa bungei</i> C. A. Mey.		
キジツ	ダイダイ <i>Citrus aurantium</i> Linné var. <i>daidai</i> Makino = <i>Citrus aurantium</i> L. var. <i>daidai</i> Makino ----- <i>Citrus aurantium</i> L. Daidai	<i>Rutaceae</i>	<i>Rutaceae</i>
	ナツミカン <i>Citrus natsudaikai</i> Hayata		
	<i>Citrus aurantium</i> Linné = <i>Citrus aurantium</i> L.		
	ハッサク <i>Citrus aurantium</i> L. subsp. <i>hassaku</i> (Tanaka) Hiroe ----- <i>Citrus hassaku</i> hort. ex Tanaka		
牛脂	ウシ <i>Bos taurus</i> Linné var. <i>domesticus</i> Gmelin = <i>Bos taurus</i> L. var. <i>domesticus</i> Gmelin	<i>Bovidae</i>	<i>Bovidae</i> #
キョウカツ	<i>Notopterygium incisum</i> Ting ex H. T. Chang	<i>Umbelliferae</i>	<i>Umbelliferae</i> / <i>Apiaceae</i>
	<i>Notopterygium forbesii</i> Boissieu		
キョウニン	ホンアンズ <i>Prunus armeniaca</i> Linné = <i>Prunus armeniaca</i> L.	<i>Rosaceae</i>	<i>Rosaceae</i>
	アンズ <i>Prunus armeniaca</i> Linné var. <i>ansu</i> Maximowicz = <i>Prunus armeniaca</i> L. var. <i>ansu</i> Maxim.		
	<i>Prunus sibirica</i> Linné = <i>Prunus sibirica</i> L.		
クコシ	クコ <i>Lycium chinense</i> Miller = <i>Lycium chinense</i> Mill.	<i>Solanaceae</i>	<i>Solanaceae</i>
	<i>Lycium barbarum</i> Linné = <i>Lycium barbarum</i> L.		
クジン	クララ <i>Sophora flavescens</i> Aiton	<i>Leguminosae</i>	<i>Leguminosae</i> / <i>Fabaceae</i>
木クレオソート	<i>Pinus</i> 属諸種植物	<i>Pinaceae</i>	<i>Pinaceae</i> #
	<i>Cryptomeria</i> 属諸種植物	<i>Taxodiaceae</i>	<i>Cupressaceae</i> #
	<i>Fagus</i> 属諸種植物	<i>Fagaceae</i>	<i>Fagaceae</i>
	<i>Afzelia</i> 属植物 (<i>Intsia</i> 属植物)	<i>Leguminosae</i>	<i>Leguminosae</i> / <i>Fabaceae</i>
	<i>Shorea</i> 属植物	<i>Dipterocarpaceae</i>	<i>Dipterocarpaceae</i>
	<i>Tectona</i> 属植物	<i>Verbenaceae</i>	<i>Labiatae</i> / <i>Lamiaceae</i>
ケイガイ	ケイガイ <i>Schizonepeta tenuifolia</i> Briquet = <i>Schizonepeta tenuifolia</i> Briq.	<i>Labiatae</i>	<i>Labiatae</i> / <i>Lamiaceae</i>
ケイヒ	<i>Cinnamomum cassia</i> J. Presl = <i>Cinnamomum cassia</i> (L.) J. Presl	<i>Lauraceae</i>	<i>Lauraceae</i>
ケイヒ油	<i>Cinnamomum cassia</i> J. Presl = <i>Cinnamomum cassia</i> (L.) J. Presl	<i>Lauraceae</i>	<i>Lauraceae</i>
	<i>Cinnamomum zeylanicum</i> Nees		
ケツメイシ	エビスグサ <i>Cassia obtusifolia</i> Linné = <i>Cassia obtusifolia</i> L.	<i>Leguminosae</i>	<i>Leguminosae</i> / <i>Fabaceae</i>
	<i>Cassia tora</i> Linné		

	= <i>Cassia tora</i> L.					
ケンゴシ	アサガオ <i>Pharbitis nil</i> Choisy = <i>Pharbitis nil</i> (L.) Choisy	<i>Convolvulaceae</i>	<i>Convolvulaceae</i>			
ゲンチアナ	<i>Gentiana lutea</i> Linné = <i>Gentiana lutea</i> L.	<i>Gentianaceae</i>	<i>Gentianaceae</i>			
ゲンノショウコ	ゲンノショウコ <i>Geranium thunbergii</i> Siebold et Zuccarini = <i>Geranium thunbergii</i> Siebold & Zucc.	<i>Geraniaceae</i>	<i>Geraniaceae</i>			
コウイ	トウモロコシ <i>Zea mays</i> Linné = <i>Zea mays</i> L.	<i>Gramineae</i>	<i>Gramineae</i> <i>Poaceae</i>			
	キャッサバ <i>Manihot esculenta</i> Crantz	<i>Euphorbiaceae</i>	<i>Euphorbiaceae</i>			
	ジャガイモ <i>Solanum tuberosum</i> Linné = <i>Solanum tuberosum</i> L.	<i>Solanaceae</i>	<i>Solanaceae</i>			
	サツマイモ <i>Ipomoea batatas</i> Poirét = <i>Ipomoea batatas</i> (L.) Poir. ----- <i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam.	<i>Convolvulaceae</i>	<i>Convolvulaceae</i>			
	イネ <i>Oryza sativa</i> Linné = <i>Oryza sativa</i> L.	<i>Gramineae</i>	<i>Gramineae</i> <i>Poaceae</i>			
コウカ	ベニバナ <i>Carthamus tinctorius</i> Linné = <i>Carthamus tinctorius</i> L.	<i>Compositae</i>	<i>Compositae</i> <i>Asteraceae</i>			
コウジン	オタネニンジン <i>Panax ginseng</i> C. A. Meyer = <i>Panax ginseng</i> C. A. Mey. ----- * <i>Panax schinseng</i> Nees	<i>Araliaceae</i>	<i>Araliaceae</i>			
コウブシ	ハマズグ <i>Cyperus rotundus</i> Linné = <i>Cyperus rotundus</i> L.	<i>Cyperaceae</i>	<i>Cyperaceae</i>			
コウベイ	イネ <i>Oryza sativa</i> Linné = <i>Oryza sativa</i> L.	<i>Gramineae</i>	<i>Gramineae</i> <i>Poaceae</i>			
コウボク	ホオノキ <i>Magnolia obovata</i> Thunberg = <i>Magnolia obovata</i> Thunb. ----- * <i>Magnolia hypoleuca</i> Siebold et Zuccarini = <i>Magnolia hypoleuca</i> Siebold & Zucc. ----- <i>Magnolia officinalis</i> Rehder et E. H. Wilson ----- <i>Magnolia officinalis</i> Rehder et E. H. Wilson var. <i>biloba</i> Rehder et E. H. Wilson	<i>Magnoliaceae</i>	<i>Magnoliaceae</i>			
	ゴオウ	ウシ <i>Bos taurus</i> Linné var. <i>domesticus</i> Gmelin = <i>Bos taurus</i> L. var. <i>domesticus</i> Gmelin	<i>Bovidae</i>	<i>Bovidae</i> #		
	ゴシツ	<i>Achyranthes bidentata</i> Blume	<i>Amaranthaceae</i>	<i>Amaranthaceae</i>		
		ヒナタイノコズチ <i>Achyranthes fauriei</i> H. Léveillé et Vaniot = <i>Achyranthes fauriei</i> H. Lev. & Vaniot				
ゴシユユ	<i>Euodia officinalis</i> Dode ----- * <i>Evodia officinalis</i> Dode ----- <i>Evodia rutaecarpa</i> (A. juss.) Benth. var. <i>officinalis</i> (Dode) Huang ----- <i>Euodia bodinieri</i> Dode ----- * <i>Evodia bodinieri</i> Dode ----- <i>Evodia rutaecarpa</i> (A. Juss.) Benth. var. <i>bodinieri</i> (Dode) Huang	<i>Rutaceae</i>	<i>Rutaceae</i>			
	ゴシユユ <i>Euodia ruticarpa</i> Hooker filius et Thomson = <i>Euodia ruticarpa</i> (A. Juss.) Hook. f. & Thomson ----- * <i>Evodia rutaecarpa</i> Bentham = <i>Evodia rutaecarpa</i> (A. Juss.) Benth. ----- <i>Tetradium ruticarpum</i> (A. Juss.) T.G. Hartley					
	ゴボウシ			ゴボウ <i>Arctium lappa</i> Linné = <i>Arctium lappa</i> L.	<i>Compositae</i>	<i>Compositae</i> <i>Asteraceae</i>
	ゴマ ゴマ油			ゴマ <i>Sesamum indicum</i> Linné = <i>Sesamum indicum</i> L.	<i>Pedaliaceae</i>	<i>Pedaliaceae</i>
	ゴミシ			チョウセンゴミシ <i>Schisandra chinensis</i> Baillon = <i>Schisandra chinensis</i> (Turcz.) Baill.	<i>Schisandraceae</i>	<i>Schisandraceae</i>
コロンボ	<i>Jateorhiza columba</i> Miers	<i>Menispermaceae</i>	<i>Menispermaceae</i>			
コンズランゴ	<i>Marsdenia cundurango</i> Reichenbach filius = <i>Marsdenia cundurango</i> Rehb. f.	<i>Asclepiadaceae</i>	<i>Apocynaceae</i>			
サイコ	ミシマサイコ <i>Bupleurum falcatum</i> Linné = <i>Bupleurum falcatum</i> L. ----- <i>Bupleurum chinense</i> DC. ----- <i>Bupleurum scorzonrifolium</i> Willd.	<i>Umbelliferae</i>	<i>Umbelliferae</i> <i>Apiaceae</i>			
	サイシン			ケイリンサイシン <i>Asiasarum heterotropoides</i> F. Maekawa var. <i>mandshuricum</i> F. Maekawa = <i>Asiasarum heterotropoides</i> (F. Schmidt) F. Maek. var. <i>mandshuricum</i> (Maxim.) F. Maek. ----- <i>Asarum heterotropoides</i> F. Schmidt var. <i>mandshuricum</i> (Maxim.) Kitag. ----- ウスバサイシン <i>Asiasarum sieboldii</i> F. Maekawa = <i>Asiasarum sieboldii</i> (Miq.) F. Maek.		
				<i>Aristolochiaceae</i>	<i>Aristolochiaceae</i>	

	<i>Asarum sieboldii</i> Miq. ウスゲサイシン <i>Asarum sieboldii</i> Miq. var. <i>seoulense</i> Nakai		
サフラン	サフラン <i>Crocus sativus</i> Linné = <i>Crocus sativus</i> L.	<i>Iridaceae</i>	<i>Iridaceae</i>
サンキライ	<i>Smilax glabra</i> Roxburgh = <i>Smilax glabra</i> Roxb.	<i>Liliaceae</i>	<i>Smilacaceae</i>
サンザシ	サンザシ <i>Crataegus cuneata</i> Siebold et Zuccarini = <i>Crataegus cuneata</i> Siebold & Zucc. オオミサンザシ <i>Crataegus pinnatifida</i> Bunge var. <i>major</i> N. E. Brown = <i>Crataegus pinnatifida</i> Bunge var. <i>major</i> N. E. Br.	<i>Rosaceae</i>	<i>Rosaceae</i>
サンシシ	クチナシ <i>Gardenia jasminoides</i> J. Ellis = <i>Gardenia jasminoides</i> J. Ellis f. <i>longicarpa</i> Z. W. Xie & M. Okada	<i>Rubiaceae</i>	<i>Rubiaceae</i>
サンシュユ	サンシュユ <i>Cornus officinalis</i> Siebold et Zuccarini = <i>Cornus officinalis</i> Siebold & Zucc.	<i>Cornaceae</i>	<i>Cornaceae</i>
サンショウ	サンショウ <i>Zanthoxylum piperitum</i> De Candolle = <i>Zanthoxylum piperitum</i> (L.) DC. アサクラザンショウ <i>Zanthoxylum piperitum</i> (L.) DC. f. <i>inerme</i> Makino	<i>Rutaceae</i>	<i>Rutaceae</i>
サンソウニン	サネトナツメ <i>Ziziphus jujuba</i> Miller var. <i>spinosa</i> Hu ex H. F. Chow = <i>Ziziphus jujuba</i> Mill. var. <i>spinosa</i> (Bunge) Hu ex H. F. Chow	<i>Rhamnaceae</i>	<i>Rhamnaceae</i>
サンヤク	ヤマノイモ <i>Dioscorea japonica</i> Thunberg = <i>Dioscorea japonica</i> Thunb. ナガイモ <i>Dioscorea batatas</i> Decaisne = <i>Dioscorea batatas</i> Decne. = <i>Dioscorea opposita</i> Thunb.	<i>Dioscoreaceae</i>	<i>Dioscoreaceae</i>
ジオウ	アカヤジオウ <i>Rehmannia glutinosa</i> Liboschitz var. <i>purpurea</i> Makino = <i>Rehmannia glutinosa</i> Libosch. var. <i>purpurea</i> Makino <i>Rehmannia glutinosa</i> Liboschitz = <i>Rehmannia glutinosa</i> Libosch.	<i>Scrophulariaceae</i>	<i>Orobanchaceae</i>
シゴカ	エゾウコギ <i>Eleutherococcus senticosus</i> Maximowicz = <i>Eleutherococcus senticosus</i> (Rupr. & Maxim.) Maxim. * <i>Acanthopanax senticosus</i> Harms = <i>Acanthopanax senticosus</i> (Rupr. & Maxim.) Harms	<i>Araliaceae</i>	<i>Araliaceae</i>
ジコッピ	クコ <i>Lycium chinense</i> Miller = <i>Lycium chinense</i> Mill. <i>Lycium barbarum</i> Linné = <i>Lycium barbarum</i> L.	<i>Solanaceae</i>	<i>Solanaceae</i>
シコン	ムラサキ <i>Lithospermum erythrorhizon</i> Siebold et Zuccarini = <i>Lithospermum erythrorhizon</i> Siebold & Zucc.	<i>Boraginaceae</i>	<i>Boraginaceae</i>
シツリシ	ハマビシ <i>Tribulus terrestris</i> Linné = <i>Tribulus terrestris</i> L.	<i>Zygophyllaceae</i>	<i>Zygophyllaceae</i>
シャカンゾウ	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fischer = <i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch. <i>Glycyrrhiza glabra</i> Linné = <i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	<i>Leguminosae</i>	<i>Leguminosae</i> / <i>Fabaceae</i>
シャクヤク	シャクヤク <i>Paeonia lactiflora</i> Pallas = <i>Paeonia lactiflora</i> Pall.	<i>Paeoniaceae</i>	<i>Paeoniaceae</i>
ジャシヨウシ	<i>Cnidium monnieri</i> Cusson = <i>Cnidium monnieri</i> (L.) Cusson	<i>Umbelliferae</i>	<i>Umbelliferae</i> / <i>Apiaceae</i>
シャゼンシ	オオバコ <i>Plantago asiatica</i> Linné = <i>Plantago asiatica</i> L.	<i>Plantaginaceae</i>	<i>Plantaginaceae</i>
シャゼンソウ	オオバコ <i>Plantago asiatica</i> Linné = <i>Plantago asiatica</i> L.	<i>Plantaginaceae</i>	<i>Plantaginaceae</i>
ジュウヤク	ドクダミ <i>Houttuynia cordata</i> Thunberg = <i>Houttuynia cordata</i> Thunb.	<i>Saururaceae</i>	<i>Saururaceae</i>
シュクシャ	<i>Amomum villosum</i> Loureiro var. <i>xanthioides</i> T. L. Wu et S. J. Chen = <i>Amomum villosum</i> Lour. var. <i>xanthioides</i> (Wall. ex Baker) T. L. Wu & S. J. Chen = <i>Amomum xanthioides</i> Wallich = <i>Amomum xanthioides</i> Wall. ex Baker = <i>Amomum villosum</i> Lour. var. <i>nanum</i> H. T. Tsai & S. W. Zhao = <i>Amomum villosum</i> Loureiro var. <i>villosum</i> = <i>Amomum villosum</i> Lour. var. <i>villosum</i> = <i>Amomum villosum</i> Lour. = <i>Amomum longiligulare</i> T. L. Wu	<i>Zingiberaceae</i>	<i>Zingiberaceae</i>
ショウキョウ	ショウガ <i>Zingiber officinale</i> Roscoe	<i>Zingiberaceae</i>	<i>Zingiberaceae</i>
ショウズク	<i>Elettaria cardamomum</i> Maton	<i>Zingiberaceae</i>	<i>Zingiberaceae</i>
ショウマ	<i>Cimicifuga dahurica</i> Maximowicz = <i>Cimicifuga dahurica</i> (Turcz.) Maxim. <i>Cimicifuga heracleifolia</i> Komarov	<i>Ranunculaceae</i>	<i>Ranunculaceae</i>

	= <i>Cimicifuga heracleifolia</i> Kom. <i>Cimicifuga foetida</i> Linné = <i>Cimicifuga foetida</i> L.		
	サラシナショウマ <i>Cimicifuga simplex</i> Turczaninow = <i>Cimicifuga simplex</i> (DC.) Turcz.		
シンイ	<i>Magnolia biondii</i> Pampanini = <i>Magnolia biondii</i> Pamp. ハクモクレン <i>Magnolia heptapeta</i> Dandy = <i>Magnolia heptapeta</i> (Buchoz) Dandy * <i>Magnolia denudata</i> Desrousseaux = <i>Magnolia denudata</i> Desr. <i>Magnolia sprengeri</i> Pampanini = <i>Magnolia sprengeri</i> Pamp. タムシバ <i>Magnolia salicifolia</i> Maximowicz = <i>Magnolia salicifolia</i> (Siebold & Zucc.) Maxim. コブシ <i>Magnolia kobus</i> De Candolle = <i>Magnolia kobus</i> DC.	Magnoliaceae	Magnoliaceae
シンギ	<i>Hedysarum polybotrys</i> Handel-Mazzetti = <i>Hedysarum polybotrys</i> Hand.-Mazz.	Leguminosae	Leguminosae/ Fabaceae
セネガ	セネガ <i>Polygala senega</i> Linné = <i>Polygala senega</i> L. ヒロハセネガ <i>Polygala senega</i> Linné var. <i>latifolia</i> Torrey et Gray = <i>Polygala senega</i> L. var. <i>latifolia</i> Torr. & A. Gray	Polygalaceae	Polygalaceae
センキュウ	センキュウ <i>Cnidium officinale</i> Makino	Umbelliferae	Umbelliferae/ Apiaceae
ゼンコ	<i>Peucedanum praeruptorum</i> Dunn ノダケ <i>Angelica decursiva</i> Franchet et Savatier = <i>Angelica decursiva</i> (Miq.) Franch. & Sav. * <i>Peucedanum decursivum</i> Maximowicz = <i>Peucedanum decursivum</i> (Miq.) Maxim.	Umbelliferae	Umbelliferae/ Apiaceae
センコツ	コウホネ <i>Nuphar japonica</i> De Candolle = <i>Nuphar japonica</i> DC. ネムロコウホネ <i>Nuphar pumila</i> De Candolle = <i>Nuphar pumila</i> (Timm) DC. 上記種の種間雑種	Nymphaeaceae	Nymphaeaceae
センソ	アジアヒキガエル <i>Bufo gargarizans</i> Cantor = <i>Bufo bufo gargarizans</i> Cantor <i>Bufo melanostictus</i> Schneider = <i>Duttaphrynus melanostictus</i> Schneider	Bufoidea	Bufoidea#
センナ	<i>Cassia angustifolia</i> Vahl <i>Cassia acutifolia</i> Delile	Leguminosae	Leguminosae/ Fabaceae
センブリ	センブリ <i>Swertia japonica</i> Makino = <i>Swertia japonica</i> (Shult.) Makino	Gentianaceae	Gentianaceae
ソウジュツ	ホソバオケラ <i>Atractylodes lancea</i> De Candolle = <i>Atractylodes lancea</i> (Thunb.) DC. シナオケラ <i>Atractylodes chinensis</i> Koidzumi = <i>Atractylodes chinensis</i> (Bunge) Koidz. 上記種の種間雑種	Compositae	Compositae/ Asteraceae
ソウハクヒ	マグワ <i>Morus alba</i> Linné = <i>Morus alba</i> L.	Moraceae	Moraceae
ソボク	<i>Caesalpinia sappan</i> Linné = <i>Caesalpinia sappan</i> L.	Leguminosae	Leguminosae/ Fabaceae
ソヨウ	シソ <i>Perilla frutescens</i> Britton var. <i>crispa</i> W. Deane = <i>Perilla frutescens</i> (L.) Britton var. <i>crispa</i> (Thunb.) W. Deane	Labiatae	Labiatae/ Lamiaceae
ダイオウ	<i>Rheum palmatum</i> Linné = <i>Rheum palmatum</i> L. <i>Rheum tanguticum</i> Maximowicz = <i>Rheum tanguticum</i> Maxim. <i>Rheum officinale</i> Baillon = <i>Rheum officinale</i> Baill. <i>Rheum coreanum</i> Nakai 上記種の種間雑種	Polygonaceae	Polygonaceae
ダイズ油	ダイズ <i>Glycine max</i> Merrill = <i>Glycine max</i> (L.) Merr.	Leguminosae	Leguminosae/ Fabaceae
タイソウ	ナツメ <i>Ziziphus jujuba</i> Miller var. <i>inermis</i> Rehder = <i>Ziziphus jujuba</i> Mill. var. <i>inermis</i> (Bunge) Rehder	Rhamnaceae	Rhamnaceae
タクシャ	サジオモダカ <i>Alisma orientale</i> Juzepczuk	Alismataceae	Alismataceae

	= <i>Alisma orientale</i> (Sam.) Juz. ----- <i>Alisma plantago-aquatica</i> L. var. <i>orientale</i> Sam.		
タンジン	タンジン <i>Salvia miltiorrhiza</i> Bunge	Labiatae	Labiatae/ Lamiaceae
チクセツニンジン	トチバニンジン <i>Panax japonicus</i> C. A. Meyer = <i>Panax japonicus</i> C. A. Mey.	Araliaceae	Araliaceae
チモ	ハナスゲ <i>Anemarrhena asphodeloides</i> Bunge	Liliaceae	Asparagaceae
チョウジ チョウジ油	チョウジ <i>Syzygium aromaticum</i> Merrill et L. M. Perry = <i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. & L. M. Perry ----- * <i>Eugenia caryophyllata</i> Thunberg = <i>Eugenia caryophyllata</i> Thunb. <i>Eugenia caryophyllus</i> (Spreng.) Bullock & S. G. Harrison	Myrtaceae	Myrtaceae
チョウトウコウ	カギカズラ <i>Uncaria rhynchophylla</i> Miquel = <i>Uncaria rhynchophylla</i> (Miq.) Miq. ----- <i>Uncaria sinensis</i> Haviland = <i>Uncaria sinensis</i> (Oliv.) Havil. ----- <i>Uncaria macrophylla</i> Wallich = <i>Uncaria macrophylla</i> Wall.	Rubiaceae	Rubiaceae
チョレイ	チョレイマイタケ <i>Polyporus umbellatus</i> Fries = <i>Polyporus umbellatus</i> (Pers.) Fries	Polyporaceae	Polyporaceae [#]
チンピ	ウンシュウミカン <i>Citrus unshiu</i> Marcowicz = <i>Citrus unshiu</i> (Swingle) Marcow. ----- <i>Citrus reticulata</i> Blanco Unshiu ----- <i>Citrus reticulata</i> Blanco	Rutaceae	Rutaceae
ツバキ油	ヤブツバキ(ツバキ) <i>Camellia japonica</i> Linné = <i>Camellia japonica</i> L.	Theaceae	Theaceae
テレピン油	<i>Pinus</i> 属諸種植物	Pinaceae	Pinaceae [#]
テンマ	オニノヤガラ <i>Gastrodia elata</i> Blume	Orchidaceae	Orchidaceae
テンモンドウ	クサスギカズラ <i>Asparagus cochinchinensis</i> Merrill = <i>Asparagus cochinchinensis</i> (Lour.) Merr.	Liliaceae	Asparagaceae
トウガン	トウガン <i>Benincasa cerifera</i> Savi ----- <i>Benincasa hispida</i> (Thunb.) Cogn. ----- <i>Benincasa cerifera</i> Savi forma <i>emarginata</i> K. Kimura et Sugiyama = <i>Benincasa cerifera</i> Savi f. <i>emarginata</i> K. Kimura & Sugiyama	Cucurbitaceae	Cucurbitaceae
トウガラシ	トウガラシ <i>Capsicum annuum</i> Linné = <i>Capsicum annuum</i> L.	Solanaceae	Solanaceae
トウキ	トウキ <i>Angelica acutiloba</i> Kitagawa = <i>Angelica acutiloba</i> (Siebold & Zucc.) Kitag. ----- ホツカイトウキ <i>Angelica acutiloba</i> Kitagawa var. <i>sugiyamae</i> Hikino = <i>Angelica acutiloba</i> (Siebold & Zucc.) Kitag. var. <i>sugiyamae</i> Hikino	Umbelliferae	Umbelliferae/ Apiaceae
トウジン	ヒカゲツルニンジン <i>Codonopsis pilosula</i> Nannfeldt = <i>Codonopsis pilosula</i> Nannf. ----- <i>Codonopsis tangshen</i> Oliver = <i>Codonopsis tangshen</i> Oliv.	Campanulaceae	Campanulaceae
トウニン	モモ <i>Prunus persica</i> Batsch = <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch ----- <i>Prunus persica</i> Batsch var. <i> davidiana</i> Maximowicz = <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch var. <i> davidiana</i> (Carrière) Maxim. ----- <i>Prunus davidiana</i> (Carrière) Franch.	Rosaceae	Rosaceae
トウヒ	<i>Citrus aurantium</i> Linné = <i>Citrus aurantium</i> L. ----- ダイダイ <i>Citrus aurantium</i> Linné var. <i> daidai</i> Makino = <i>Citrus aurantium</i> L. var. <i> daidai</i> Makino ----- <i>Citrus aurantium</i> L. Daidai	Rutaceae	Rutaceae
トウモロコシ油	トウモロコシ <i>Zea mays</i> Linné = <i>Zea mays</i> L.	Gramineae	Gramineae/ Poaceae
ドクカツ	ウド <i>Aralia cordata</i> Thunberg = <i>Aralia cordata</i> Thunb.	Araliaceae	Araliaceae
トコン	<i>Cephaelis ipecacuanha</i> A. Richard = <i>Cephaelis ipecacuanha</i> (Brot.) A. Rich. ----- <i>Cephaelis acuminata</i> Karsten = <i>Cephaelis acuminata</i> H. Karst.	Rubiaceae	Rubiaceae
トチュウ	トチュウ <i>Eucommia ulmoides</i> Oliver = <i>Eucommia ulmoides</i> Oliv.	Eucommiaceae	Eucommiaceae
トラガント	<i>Astragalus gummifer</i> Labillardière = <i>Astragalus gummifer</i> Labill.	Leguminosae	Leguminosae/ Fabaceae
豚脂	ブタ <i>Sus scrofa</i> Linné var. <i> domesticus</i> Gray	Suidae	Suidae [#]

	= <i>Sus scrofa</i> L. var. <i>domesticus</i> Gray		
ナタネ油	セイヨウアブラナ <i>Brassica napus</i> Linné = <i>Brassica napus</i> L. アブラナ <i>Brassica rapa</i> Linné var. <i>oleifera</i> De Candolle = <i>Brassica rapa</i> L. var. <i>oleifera</i> DC.	Cruciferae	Cruciferae/ Brassicaceae
ニガキ	ニガキ <i>Picrasma quassioides</i> Bennet = <i>Picrasma quassioides</i> (D. Don) Benn.	Simaroubaceae	Simaroubaceae
ニクジュヨウ	<i>Cistanche salsa</i> G. Beck = <i>Cistanche salsa</i> (C. A. Mey.) Beck <i>Cistanche deserticola</i> Y. C. Ma = <i>Cistanche deserticola</i> Ma <i>Cistanche tubulosa</i> Wight	Orobanchaceae	Orobanchaceae
ニクズク	ニクズク <i>Myristica fragrans</i> Houttuyn = <i>Myristica fragrans</i> Houtt.	Myristicaceae	Myristicaceae
ニンジン	オタネニンジン <i>Panax ginseng</i> C. A. Meyer = <i>Panax ginseng</i> C. A. Mey. * <i>Panax schinseng</i> Nees	Araliaceae	Araliaceae
ニンドウ	スイカズラ <i>Lonicera japonica</i> Thunberg = <i>Lonicera japonica</i> Thunb.	Caprifoliaceae	Caprifoliaceae
パイモ	アミガサユリ <i>Fritillaria verticillata</i> Willdenow var. <i>thunbergii</i> Baker = <i>Fritillaria verticillata</i> Willd. var. <i>thunbergii</i> (Miq.) Baker <i>Fritillaria thunbergii</i> Miq.	Liliaceae	Liliaceae
バクガ	オオムギ <i>Hordeum vulgare</i> Linné = <i>Hordeum vulgare</i> L.	Gramineae	Gramineae/ Poaceae
バクモンドウ	ジャノヒゲ <i>Ophiopogon japonicus</i> Ker-Gawler = <i>Ophiopogon japonicus</i> (L. f.) Ker Gawl.	Liliaceae	Asparagaceae
ハチミツ	ヨーロッパミツバチ <i>Apis mellifera</i> Linné = <i>Apis mellifera</i> L. トウヨウミツバチ <i>Apis cerana</i> Fabricius	Apidae	Apidae [≠]
ハッカ ハッカ油	ハッカ <i>Mentha arvensis</i> Linné var. <i>piperascens</i> Malinvaud = <i>Mentha arvensis</i> L. var. <i>piperascens</i> Malinv. <i>Mentha haplocalyx</i> Briq. ハッカ <i>Mentha arvensis</i> L. var. <i>piperascens</i> Malinv. を母種とする交配種	Labiatae	Labiatae/ Lamiaceae
ハマボウフウ	ハマボウフウ <i>Glehnia littoralis</i> F. Schmidt ex Miquel = <i>Glehnia littoralis</i> F. Schmidt ex Miq.	Umbelliferae	Umbelliferae/ Apiaceae
ハンゲ	カラスビシヤク <i>Pinellia ternata</i> Breitenbach = <i>Pinellia ternata</i> (Thunb.) Breitenb.	Araceae	Araceae
ヒマシ油	トウゴマ <i>Ricinus communis</i> Linné = <i>Ricinus communis</i> L.	Euphorbiaceae	Euphorbiaceae
ビヤクゴウ	オニユリ <i>Lilium lancifolium</i> Thunberg = <i>Lilium lancifolium</i> Thunb. ハカタユリ <i>Lilium brownii</i> F. E. Brown var. <i>colchesteri</i> Wilson = <i>Lilium brownii</i> F. E. Br. var. <i>colchesteri</i> (Van Houtte) E. H. Wilson ex Elwes <i>Lilium brownii</i> F. E. Brown var. <i>viridulum</i> Baker <i>Lilium brownii</i> F. E. Brown = <i>Lilium brownii</i> F. E. Br. <i>Lilium pumilum</i> De Candolle = <i>Lilium pumilum</i> DC.	Liliaceae	Liliaceae
ビヤクシ	ヨロイグサ <i>Angelica dahurica</i> Bentham et Hooker filius ex Franchet et Savatier = <i>Angelica dahurica</i> (Hoffm.) Benth. & Hook. f. ex Franch. & Sav.	Umbelliferae	Umbelliferae/ Apiaceae
ビヤクジュツ	オケラ <i>Atractylodes japonica</i> Koidzumi ex Kitamura = <i>Atractylodes japonica</i> Koidz. ex Kitam. オオバナオケラ <i>Atractylodes macrocephala</i> Koidzumi = <i>Atractylodes macrocephala</i> Koidz. * <i>Atractylodes ovata</i> De Candolle = <i>Atractylodes ovata</i> (Thunb.) DC.	Compositae	Compositae/ Asteraceae
ビワヨウ	ビワ <i>Eriobotrya japonica</i> Lindley = <i>Eriobotrya japonica</i> (Thunb.) Lindl.	Rosaceae	Rosaceae
ピンロウジ	ピンロウ <i>Areca catechu</i> Linné = <i>Areca catechu</i> L.	Palmae	Palmae/ Arecaceae
ブクリョウ	マツホド <i>Wolfiporia cocos</i> Ryvarden et Gilbertson = <i>Wolfiporia cocos</i> (Schw.) Ryv. & Gilbn. * <i>Poria cocos</i> Wolf = <i>Poria cocos</i> (Schw.) Wolf	Polyporaceae	Polyporaceae [≠]
ブシ	ハナトリカブト <i>Aconitum carmichaeli</i> Debeaux オクトリカブト <i>Aconitum japonicum</i> Thunberg = <i>Aconitum japonicum</i> Thunb.	Ranunculaceae	Ranunculaceae

ベラドンナコン	ベラドンナ <i>Atropa belladonna</i> Linné = <i>Atropa belladonna</i> L.	<i>Solanaceae</i>	<i>Solanaceae</i>
ヘンズ	フジマメ <i>Dolichos lablab</i> Linné = <i>Dolichos lablab</i> L.	<i>Leguminosae</i>	<i>Leguminosae</i> <i>Fabaceae</i>
ボウイ	オオツヅラフジ <i>Sinomenium acutum</i> Rehder et E. H. Wilson = <i>Sinomenium acutum</i> (Thunb.) Rehder & E. H. Wilson	<i>Menispermaceae</i>	<i>Menispermaceae</i>
ボウコン	チガヤ <i>Imperata cylindrica</i> Beauvois = <i>Imperata cylindrica</i> (L.) P. Beauv. ----- <i>Imperata cylindrica</i> (L.) P. Beauv. var. <i>major</i> (Nees) C. E. Hubb.	<i>Gramineae</i>	<i>Gramineae</i> <i>Poaceae</i>
ボウフウ	<i>Saposhnikovia divaricata</i> Schischkin = <i>Saposhnikovia divaricata</i> (Turcz.) Schischk.	<i>Umbelliferae</i>	<i>Umbelliferae</i> <i>Apiaceae</i>
ボクソク	クヌギ <i>Quercus acutissima</i> Carruthers = <i>Quercus acutissima</i> Carruth.	<i>Fagaceae</i>	<i>Fagaceae</i>
	コナラ <i>Quercus serrata</i> Murray		
	ミズナラ <i>Quercus mongholica</i> Fischer ex Ledebour var. <i>crispula</i> Ohashi = <i>Quercus mongholica</i> Fisch. ex Ledeb. var. <i>crispula</i> (Blume) Ohashi		
	アベマキ <i>Quercus variabilis</i> Blume		
ボタンビ	ボタン <i>Paeonia suffruticosa</i> Andrews * <i>Paeonia moutan</i> Sims	<i>Paeoniaceae</i>	<i>Paeoniaceae</i>
ホミカ	<i>Strychnos nux-vomica</i> Linné = <i>Strychnos nux-vomica</i> L.	<i>Loganiaceae</i>	<i>Loganiaceae</i>
ボレイ	カキ <i>Ostrea gigas</i> Thunberg = <i>Ostrea gigas</i> Thunb.	<i>Ostreidae</i>	<i>Ostreidae</i> [#]
マオウ	<i>Ephedra sinica</i> Stapf	<i>Ephedraceae</i>	<i>Ephedraceae</i> [#]
	<i>Ephedra intermedia</i> Schrenk et C. A. Meyer = <i>Ephedra intermedia</i> Schrenk & C. A. Mey.		
	<i>Ephedra equisetina</i> Bunge		
マクリ	マクリ <i>Digenea simplex</i> C. Agardh = <i>Digenea simplex</i> (Wulfen) C. Agardh	<i>Rhodomelaceae</i>	<i>Rhodomelaceae</i> [#]
マシニン	アサ <i>Cannabis sativa</i> Linné = <i>Cannabis sativa</i> L.	<i>Moraceae</i>	<i>Cannabaceae</i>
ミツロウ	ヨーロッパミツバチ <i>Apis mellifera</i> Linné = <i>Apis mellifera</i> L.	<i>Apidae</i>	<i>Apidae</i> [#]
	トウヨウミツバチ <i>Apis cerana</i> Fabricius		
モクツウ	アケビ <i>Akebia quinata</i> Decaisne = <i>Akebia quinata</i> (Thunb. ex Hoult.) Decne.	<i>Lardizabalaceae</i>	<i>Lardizabalaceae</i>
	ミツバアケビ <i>Akebia trifoliata</i> Koidzumi = <i>Akebia trifoliata</i> (Thunb.) Koidz.		
	上記種の種間雑種		
モッコウ	<i>Saussurea lappa</i> Clarke = <i>Saussurea lappa</i> (Decne.) C. B. Clarke ----- <i>Aucklandia lappa</i> Decne.	<i>Compositae</i>	<i>Compositae</i> <i>Asteraceae</i>
ヤクチ	<i>Alpinia oxyphylla</i> Miquel = <i>Alpinia oxyphylla</i> Miq.	<i>Zingiberaceae</i>	<i>Zingiberaceae</i>
ヤクモソウ	メハジキ <i>Leonurus japonicus</i> Houttuyn = <i>Leonurus japonicus</i> Houtt.	<i>Labiatae</i>	<i>Labiatae</i> <i>Lamiaceae</i>
	<i>Leonurus sibiricus</i> Linné = <i>Leonurus sibiricus</i> L.		
ヤシ油	ココヤシ <i>Cocos nucifera</i> Linné = <i>Cocos nucifera</i> L.	<i>Palmae</i>	<i>Palmae</i> <i>Areaceae</i>
ユウタン	<i>Ursus arctos</i> Linné = <i>Ursus arctos</i> L.	<i>Ursidae</i>	<i>Ursidae</i> [#]
	その他近縁動物		
ユーカリ油	ユーカリノキ <i>Eucalyptus globulus</i> Labillardiere = <i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	<i>Myrtaceae</i>	<i>Myrtaceae</i>
	近縁植物		
ヨクイニン	ハトムギ <i>Coix lacryma-jobi</i> Linné var. <i>mayuen</i> Stapf = <i>Coix lacryma-jobi</i> L. var. <i>mayuen</i> (Rom. Caill.) Stapf	<i>Gramineae</i>	<i>Gramineae</i> <i>Poaceae</i>
ラッカセイ油	ラッカセイ <i>Arachis hypogaea</i> Linné = <i>Arachis hypogaea</i> L.	<i>Leguminosae</i>	<i>Leguminosae</i> <i>Fabaceae</i>
精製ラノリン	ヒツジ <i>Ovis aries</i> Linné = <i>Ovis aries</i> L.	<i>Bovidae</i>	<i>Bovidae</i> [#]
リュウガンニク	リュウガン <i>Euphoria longana</i> Lamarck = <i>Euphoria longana</i> Lam. ----- <i>Dimocarpus longan</i> Lour.	<i>Sapindaceae</i>	<i>Sapindaceae</i>
リュウタン	トウリンドウ <i>Gentiana scabra</i> Bunge	<i>Gentianaceae</i>	<i>Gentianaceae</i>
	リンドウ <i>Gentiana scabra</i> Bunge var. <i>buergeri</i> (Miq.) Maxim.		

	<i>Gentiana manshurica</i> Kitagawa = <i>Gentiana manshurica</i> Kitag.		
	<i>Gentiana triflora</i> Pallas = <i>Gentiana triflora</i> Pall. ----- エゾリンドウ <i>Gentiana triflora</i> Pall. var. <i>japonica</i> Hara		
リョウキョウ	<i>Alpinia officinarum</i> Hance	Zingiberaceae	Zingiberaceae
レンギョウ	レンギョウ <i>Forsythia suspensa</i> Vahl = <i>Forsythia suspensa</i> (Thunb.) Vahl	Oleaceae	Oleaceae
レンニク	ハス <i>Nelumbo nucifera</i> Gaertner = <i>Nelumbo nucifera</i> Gaertn.	Nymphaeaceae	Nelumbonaceae
ロジン	<i>Pinus</i> 属諸種植物	Pinaceae	Pinaceae [†]
ロートコン	ハシロドコロ <i>Scopolia japonica</i> Maximowicz = <i>Scopolia japonica</i> Maxim.	Solanaceae	Solanaceae
	<i>Scopolia carniolica</i> Jacquin = <i>Scopolia carniolica</i> Jacq.		
	<i>Scopolia parviflora</i> Nakai = <i>Scopolia parviflora</i> (Dunn) Nakai		
ローヤルゼリー	ヨーロッパミツバチ <i>Apis mellifera</i> Linné = <i>Apis mellifera</i> L.	Apidae	Apidae [†]
	トウヨウミツバチ <i>Apis cerana</i> Fabricius		

- 1 1) 米倉浩司, 新維管束植物分類表, 北隆館, 東京, 2019, ISBN 978-4-8326-1008-8.
- 2 2) Global Biodiversity Information Facility, <https://www.gbif.org>. (Accessed April 15, 2022).
- 3 3) 寺林進ら, 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 41, 407-418 (2010).
- 4 4) 基原植物に「その他同属植物」などが含まれる場合は, 学名の表記はないが本表に記載している.
- 5 5) 高野昭人ら, 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 52, 291-302 (2021).
- 6 6) APG IV の対象外である裸子植物, 藻類, 真菌類及び動物には, #印を付している.
- 7

8 参考情報 G5. 生薬関連 生薬及び生薬製剤の薄層クロマトグラフィー を次のように改める.

10 生薬及び生薬製剤の薄層クロマトグラフィー
11 〈G5-3-182〉

12 生薬及び生薬を主たる原料とする製剤(生薬製剤)の薄層クロマトグラフィーは, 生薬及び漢方処方エキスに配合される生薬の特徴的な成分又は成分群の含有の有無を確認することなどに用いられる. 本参考情報では, 生薬及び生薬製剤について薄層クロマトグラフィーの試験を実施する際に, 薄層クロマトグラフィー (2.03) を補完する事項を以下に記載する.

18 1. 器具及び装置

19 薄層クロマトグラフィー (2.03) を準用する. ただし, 薄層板については, 多成分系である生薬及び生薬製剤においては, より精密な成分分離を要求されることがあるため, 一般試験法 (9.42) に規定される薄層クロマトグラフィー用担体のシリカゲルより粒径が小さいクロマトグラフィー用シリカゲル(5 ~ 7 µm)を塗布した高性能薄層板(HPTLC板)を用いることもできる. なお, 検出装置の光源の適合性の確認は, ランプ, 照射システムの仕様を変更した場合, 又は, 各条に規定される線光源の波長の照射により, 規定されるスポットが認められない場合等に行う.

29 2. 操作方法

30 薄層クロマトグラフィー (2.03) を準用する.

31 3. 確認及び純度の試験

32 薄層クロマトグラフィー (2.03) を準用する. 薄層クロマトグラフィーによる生薬及び生薬製剤の確認及び純度試験には,

34 一般的に標準品, 被検成分の試薬, 試薬としての生薬又は各条
35 品を標準物質として使用するが, 多成分系の試料溶液においては, 被検成分が単一のスポットとして認められ, 特徴的な蛍光
36 や発色などを示し, 明瞭に確認することが可能な場合は, 標準物質を使用せず, スポットの色調及びR_f値で判定する試験法を設定することもできる. また, 生薬及び生薬製剤は天産物由来
37 であるため, 成分パターンが複雑であることから, 薄層クロマトグラフィー (2.03) に分光学的測定法(紫外可視吸光度測定法
38 〈2.24〉, 核磁気共鳴スペクトル測定法 (2.21) など)や質量分析法 (2.62) を組み合わせることで, 確認又は純度試験の更なる
39 信頼性向上が期待できる.

45 4. 確認試験の試験条件の変更に関する留意事項

46 薄層クロマトグラフィー (2.03) を準用する. また, 標準物質を規定しない試験法が設定されている場合であっても, 標準物質を用いて色調及びR_f値の一致により確認する方法へ変更することができる.

50 5. 用語

51 クロマトグラフィー総論 (2.00) の定義を準用する.

52 6. その他

53 薄層クロマトグラフィーで定量を行う際は, 自動化された試料のスポット装置及びデンシトメトリーなどを用いることにより定量的に測定することが可能となる. それらの薄層クロマトグラフィー用走査装置を用いる際のシステム適合性については, 必要に応じ, 液体クロマトグラフィー (2.01) のシステム適合性の規定を準用する.