

資料No. 1 - 2

第十五改正日本薬局方第一追補（案）

平成19年4月24日
日本薬局方部会

第十五改正日本薬局方第一追補（案）目次

通 則	1
改正事項		
生薬総則	2
改正事項		
製剤総則	3
改正事項		
一般試験法	5
改正事項		
医薬品各条		
改正事項		
化学薬品等	51
ア	51
カ	97
サ	110
タ	137
ナ	149
ハ	158
マ	188
ヤ	199
ラ	200
生 薬 等	209
参照	256
スペクトル		

通則 改正事項

通則の部 9の条を次のように改める。

9 日本薬局方における主な単位については、次の記号を用いる。

メートル	m	センチメートル	cm
ミリメートル	mm	マイクロメートル	μm
ナノメートル	nm	キログラム	kg
グラム	g	ミリグラム	mg
マイクログラム	μg	ナノグラム	ng
ピコグラム	pg	モル	mol
ミリモル	mmol	セルシウス度	$^{\circ}\text{C}$
平方センチメートル	cm^2	リットル	L
ミリリットル	mL	マイクロリットル	μL
メガヘルツ	MHz	毎センチメートル	cm^{-1}
ニュートン	N	キロパスカル	kPa
パスカル	Pa	モル毎リットル	mol/L
ミリモル毎リットル	mmol/L	パスカル秒	Pa·s
ミリパスカル秒	mPa·s	平方ミリメートル毎秒	mm^2/s
ルクス	lx	質量百分率	%
質量百万分率	ppm	質量十億分率	ppb
体積百分率	vol%	体積百万分率	vol ppm
質量対容量百分率	w/v%	エンドトキシン単位	EU

ただし、一般試験法の核磁気共鳴スペクトル測定法で用いる ppm は化学シフトを示す。
また、w/v% は製剤の処方又は成分などを示す場合に用いる。

生薬総則 改正事項

生薬総則の部 1の条を次のように改める。

- 1 医薬品各条の生薬は、動植物の薬用とする部分、細胞内容物、分泌物、抽出物又は鉱物などであり、生薬総則及び生薬試験法を適用する生薬は次のとおりである。

アカメガシワ、アセンヤク、アセンヤク末、アマチャ、アマチャ末、アラビアゴム、アラビアゴム末、アロエ、アロエ末、アンソッコウ、イレイセン、インチンコウ、インヨウカク、ウイキョウ、ウイキョウ末、ウコン、ウコン末、ウヤク、ウワウルシ、エイジツ、エイジツ末、エンゴサク、エンゴサク末、オウギ、オウゴン、オウゴン末、オウセイ、オウバク、オウバク末、オウレン、オウレン末、オンジ、オンジ末、カゴソウ、カシユウ、ガジュツ、カッコン、カノコソウ、カノコソウ末、カロコン、カンキョウ、カンゾウ、カンゾウ末、カンテン、カンテン末、キキョウ、キキョウ末、キクカ、キササゲ、キジツ、キョウカツ、キョウニン、クコシ、クジン、クジン末、ケイガイ、ケイヒ、ケイヒ末、ケツメイシ、ケンゴシ、ゲンチアナ、ゲンチアナ末、ゲンノショウコ、ゲンノショウコ末、コウカ、コウジン、コウブシ、コウブシ末、コウボク、コウボク末、ゴオウ、ゴシツ、ゴシユ、ゴボウシ、ゴミシ、コメデンプン、コロombo、コロombo末、コンズランゴ、サイコ、サイシン、サフラン、サンキライ、サンキライ末、サンザシ、サンシシ、サンシシ末、サンシユ、サンショウ、サンショウ末、サンソウニン、サンヤク、サンヤク末、ジオウ、シゴカ、ジコッピ、シコン、シツリシ、シヤクヤク、シヤクヤク末、ジャショウシ、シャゼンシ、シャゼンソウ、ジュウヤク、シュクシャ、シュクシャ末、ショウキョウ、ショウキョウ末、ショウズク、ショウマ、シンイ、セッコウ、セネガ、セネガ末、センキユウ、センキユウ末、ゼンコ、センコツ、センソ、センナ、センナ末、センブリ、センブリ末、ソウジュツ、ソウジュツ末、ソウハクヒ、ソボク、ソヨウ、ダイオウ、ダイオウ末、タイソウ、タクシャ、タクシャ末、チクセツニンジン、チクセツニンジン末、チモ、チョウジ、チョウジ末、チョウトウコウ、チョレイ、チョレイ末、チンピ、テンマ、テンモンドウ、トウガシ、トウガラシ、トウガラシ末、トウキ、トウキ末、トウニン、トウニン末、トウヒ、ドクカツ、トコン、トコン末、トチュウ、トラガント、トラガント末、ニガキ、ニガキ末、ニンジン、ニンジン末、ニンドウ、バイモ、バクモンドウ、ハチミツ、ハッカ、ハマボウフウ、ハンゲ、ビヤクゴウ、ビヤクシ、ビヤクジュツ、ビヤクジュツ末、ビワヨウ、ピンロウジ、ブクリョウ、ブクリョウ末、ブシ、ブシ末、ベラドンナコン、ヘンズ、ボウイ、ボウコン、ボウフウ、ボタンピ、ボタンピ末、ホミカ、ボレイ、ボレイ末、マオウ、マクリ、マシニン、モクツウ、モッコウ、ヤクチ、ヤクモソウ、ユウタン、ヨクイニン、ヨクイニン末、リュウコツ、リュウタン、リュウタン末、リョウキョウ、レンギョウ、レンニク、ロジン、ロートコン。

製剤総則 改正事項

製剤総則の部 4. エキス剤の条（1）の項を次のように改める。

4. エキス剤

（1）エキス剤は、生薬の浸出液を濃縮して製したもので、通例、次の2種類がある。

- （i）軟エキス剤
- （ii）乾燥エキス剤

製剤総則の部 9. 眼軟膏剤の条（5）の項を次のように改める。

9. 眼軟膏剤

（5）本剤は、別に規定するもののほか、眼軟膏剤の金属性異物試験法〈6.01〉に適合する。

製剤総則の部 20. チンキ剤の条（2）の項を次のように改める。

20. チンキ剤

（2）本剤を製するには、別に規定するもののほか、通例、生薬を粗末又は細切とし、次の冷浸法又はパーコレーション法による。

冷浸法：生薬を適切な容器に入れ、全量又は全量の約3/4に相当する量の浸出剤を加え、密閉して時々かき混ぜながら約5日間又は可溶性成分が十分に溶けるまで常温で放置した後、布ごしする。全量の約3/4に相当する量の浸出剤を加えた場合には、更に、残留物に適量の浸出剤を加えて洗い、圧搾し、浸出液及び洗液を合わせ全量とする。また、全量の浸出剤を加えた場合には、必要に応じて減量分の浸出剤を加え全量とすることができる。約2日間放置した後、上澄液をとるか、又はろ過して澄明な液とする。

パーコレーション法：生薬にあらかじめ浸出剤を少量ずつ加え、よく混和して潤し、密閉して室温で約2時間放置する。これを適切な浸出器になるべく密に詰め、浸出器の下口を開いた後、生薬が覆われるまで徐々に上方から浸出剤を加え、浸出液が滴下し始めたとき、下口を閉じて密閉し、室温で2～3日間放置した後、毎分1～3 mLの速度で浸出液を流出させる。更に、浸出器に適量の浸出剤を加えて流出を続け全量とし、よく混和し、2日間放置した後、上澄液をとるか、又はろ過して澄明な液とする。この操作中放置時間及び流出速度は生薬の種類と量とによって適切に変更することができる。

ただし、前記いずれかの方法によって得た製剤で、主成分の含量の規定があるものは、浸出液の一部をとり、定量し、必要に応じて浸出液又は浸出剤を加えて規定の含量に調節する。

製剤総則の部 21. 点眼剤の条（8）及び（9）の項を次のように改める。

21. 点眼剤

（8）本剤で水溶液であるもの又は本剤に添付する水性溶解液は、別に規定するもののほか、点眼剤の不溶性異物検査法〈6.11〉に適合する。ただし、容器は異物を観察するのに差し支えない程度の透明性のあるものを用いる。

(9) 本剤は、別に規定するもののほか、点眼剤の不溶性微粒子試験法(6.08)に適合する。

製剤総則の部 28. 流エキス剤の条(4)の項を次のように改める。

28. 流エキス剤

(4) 本剤は、別に規定するもののほか、次に示す流エキス剤における重金属試験法の検液及び比較液の調製を行った後、重金属試験法(1.07)に適合する。

なお、検液及び比較液の調製法は次による。

本剤 1.0 g を強熱して灰化し、希塩酸 3 mL を加えて加温した後、ろ過し、残留物を水 5 mL ずつで 2 回洗い、ろ液及び洗液を合わせ、フェノールフタレイン試液を 1 滴加えた後、アンモニア試液を液が微赤色となるまで滴加し、必要ならばろ過し、希酢酸 2 mL 及び水を加えて 50 mL とし、検液とする。

比較液は希塩酸 3 mL を量り、以下検液の調製法と同様に操作し、鉛標準液 3.0 mL 及び水を加えて 50 mL とする。

一般試験法 改正事項

一般試験法の部 前文を次のように改める。

一般試験法は、共通な試験法、医薬品の品質評価に有用な試験法及びこれに関連する事項をまとめたものである。別に規定するもののほか、アルコール数測定、アンモニウム試験、液体クロマトグラフィーによる試験、塩化物試験、炎色反応試験、エンドトキシン試験、核磁気共鳴スペクトル測定、かさ密度測定、ガスクロマトグラフィーによる試験、乾燥減量試験、眼軟膏の金属性異物試験、凝固点測定、強熱減量試験、強熱残分試験、屈折率測定、蛍光光度法による試験、原子吸光光度法による試験、抗生物質の微生物学的力価試験、鉍油試験、酸素フラスコ燃焼法による試験、残留溶媒試験、紫外可視吸光度測定、重金属試験、消化力試験、生薬の微生物限度試験、蒸留試験、浸透圧測定、水分測定、製剤均一性試験（含量均一性試験、質量偏差試験）、製剤の粒度の試験、制酸力試験、赤外吸収スペクトル測定、旋光度測定、タップ密度測定、窒素定量、注射剤の採取容量試験、注射剤の不溶性異物検査、注射剤の不溶性微粒子試験、注射剤用ガラス容器試験、定性反応、滴定終点検出、鉄試験、点眼剤の不溶性異物検査、点眼剤の不溶性微粒子試験、導電率測定、熱分析、粘度測定、薄層クロマトグラフィーによる試験、発熱性物質試験、pH 測定、比重測定、微生物限度試験、ヒ素試験、ビタミン A 定量、比表面積測定、沸点測定、プラスチック製医薬品容器試験、粉体の粒子密度測定、粉末 X 線回折測定、崩壊試験、密度測定、無菌試験、メタノール試験、有機体炭素試験、融点測定、輸液用ゴム栓試験、溶出試験、硫酸塩試験、硫酸呈色物試験及び粒度測定は、それぞれの試験法により行う。ただし、油脂の融点、脂肪酸凝固点、比重、酸価、けん化価、エステル価、水酸基価、不けん化物及びヨウ素価は、油脂試験法中のそれぞれの項に、生薬の試料の採取、分析用試料の調製、鏡検、純度試験、乾燥減量、灰分、酸不溶性灰分、エキス含量及び精油含量の試験は、生薬試験法中のそれぞれの項に従う。

それぞれの試験法等に付した番号は、一般試験法を分類し付与した固有のものである。医薬品各条等において、〈 〉を付すものは該当する一般試験法の番号を示す。

一般試験法の部 1. 09 定性反応の条マンガンの項の次に次の一項を加える。

1.09 定性反応

メシル酸塩

- (1) メシル酸塩に 2 倍量の水酸化ナトリウムを加え、穏やかに加熱して融解し、20 ～ 30 秒間加熱を続ける。冷後、少量の水を加えた後、希塩酸を加え、加温するとき、発生するガスは潤したヨウ素酸カリウムデンプン紙を青変する。
- (2) メシル酸塩に 3 倍量の硝酸ナトリウム及び 3 倍量の無水炭酸ナトリウムを加えてよくかき混ぜ、徐々に加熱する。冷後、残留物を薄めた希塩酸（1 → 5）に溶かし、必要ならばろ過し、ろ液に塩化バリウム試液を加えるとき、白色の沈殿を生じる。

一般試験法の部 2. 01 液体クロマトグラフィーの条を次のように改める。

2.01 液体クロマトグラフィー

液体クロマトグラフィーは、適当な固定相を用いて作られたカラムに試料混合物を注入し、移動相として液体を用い、固定相に対する保持力の差を利用してそれぞれの成分に分離し、分析する方法であり、液体試料又は溶液にできる試料に適用でき、物質の確認、純度の試験又は定量などに用いる。

与えられたカラムに注入された混合物は各成分に固有の比率 k で、移動相と固定相に分布する。

$$k = \frac{\text{固定相に存在する量}}{\text{移動相に存在する量}}$$

この比率 k は、液体クロマトグラフィーでは質量分布比 k などと呼ばれる。この比率 k と移動相のカラム通過時間 t_0 ($k=0$ の物質の試料注入時からピークの頂点までの時間) 及び保持時間 t_R (測定試料の注入時からピークの頂点までの時間) との間には次の関係があるので、同一条件では、保持時間は物質に固有の値となる。

$$t_R = (1+k)t_0$$

装置

通例、移動相送液用ポンプ、試料導入装置、カラム、検出器及び記録装置からなり、必要に応じて移動相組成制御装置、カラム恒温槽、反応試薬送液用ポンプ及び化学反応槽などを用いる。ポンプは、カラム及び連結チューブなどの中に移動相及び反応試薬を一定流量で送ることができるものである。試料導入装置は、一定量の試料を再現性よく装置に導入するものである。カラムは、一定の大きさにそろえた液体クロマトグラフィー用充てん剤を内面が平滑で不活性な金属などの管に均一に充てんしたものである。なお、充てん剤の代わりに固定相を管壁に保持させたものを用いることができる。検出器は、試料の移動相とは異なる性質を検出するもので、紫外又は可視吸光光度計、蛍光光度計、示差屈折計、電気化学検出器、化学発光検出器、電気伝導度検出器及び質量分析計などがあり、通例、数 μg 以下の試料に対して濃度に比例した信号を出すものである。記録装置は、検出器により得られる信号の強さを記録するものである。必要に応じて記録装置としてデータ処理装置を用いてクロマトグラム、保持時間、又は成分定量値などを記録あるいは出力させることができる。移動相組成制御装置は、段階的制御 (ステップワイズ方式) と濃度勾配制御 (グラジエント方式) があり、移動相組成を制御できるものである。

操作法

装置をあらかじめ調整した後、医薬品各条に規定する操作条件の検出器、カラム、移動相を用い、移動相を規定の流量で流し、カラムを規定の温度で平衡にした後、医薬品各条に規定する量の試料溶液又は標準溶液を試料導入装置を用いて試料導入部より注入する。分離された成分を検出器により検出し、記録装置を用いてクロマトグラムとして記録させる。分析される成分が検出器で検出されるのに適した吸収、蛍光などの物性を持たない場合には、適当な誘導体化を行い検出する。誘導体化は、通例、プレラベル法又はポストラベル法による。

確認及び純度の試験

確認は、試料の被検成分と標準被検成分の保持時間が一致すること、又は試料に標準被検成分を添加しても試料の被検成分のピークの形状が崩れないことにより試験を行う。

純度は、通例、試料中の混在物の限度に対応する濃度の標準溶液を用いる方法、又は面積百分率法により試験を行う。別に規定するもののほか、試料の異性体比は面積百分率法により求める。

面積百分率法は、クロマトグラム上に得られた各成分のピーク面積の総和を 100 とし、それに対するそれぞれの成分のピーク面積の比から組成比を求める。ただし、正確な組成比を得るためには混在物の主成分に対する感度係数によるピーク面積の補正を行う。

定量

(1) 内標準法 内標準法においては、一般に、被検成分になるべく近い保持時間を持ち、いずれのピークとも完全に分離する安定な物質を内標準物質として選ぶ。医薬品各条に規定する内標準物質の一定量に対して標準被検試料を段階的に加えて数種の標準溶液を調製する。この一定量ずつを注入して得られたクロマトグラムから、内標準物質のピーク面積又はピーク高さに対する標準被検成分のピーク面積又はピーク高さの比を求める。この比を縦軸に、標準被検成分量、又は内標準物質量に対する標準被検成分量の比を横軸にとり、検量線を作成する。この検量線は、通例、原点を通る直線となる。次に医薬品各条に規定する方法で同量の内標準物質を加えた試料溶液を調製し、検量線を作成したときと同一条件でクロマトグラムを記録させ、その内標準物質のピーク面積又

はピーク高さに対する被検成分のピーク面積又はピーク高さの比を求め、検量線を用いて被検成分量を求める。

医薬品各条では、通例、上記の検量線が直線となる濃度範囲に入る一つの標準溶液及びこれに近い濃度の試料溶液を調製し、医薬品各条で規定するそれぞれの量につき、同一条件で液体クロマトグラフィーを行い被検成分量を求める。

(2) 絶対検量線法 標準被検試料を段階的にとり、標準溶液を調製し、この一定量ずつを正確に、再現性よく注入する。得られたクロマトグラムから縦軸に標準被検成分のピーク面積又はピーク高さ、横軸に標準被検成分量を取り、検量線を作成する。この検量線は、通例、原点を通る直線となる。次に医薬品各条に規定する方法で試料溶液を調製する。次に検量線を作成したときと同一条件でクロマトグラムを記録させ、被検成分のピーク面積又はピーク高さを測定し、検量線を用いて被検成分量を求める。

医薬品各条では、通例、上記の検量線が直線となる濃度範囲に入る一つの標準溶液及びこれに近い濃度の試料溶液を調製し、医薬品各条で規定するそれぞれの量につき、同一条件で液体クロマトグラフィーを行い被検成分量を求める。この方法は、注入操作など測定操作のすべてを厳密に一定の条件に保って行う。

ピーク測定法

通例、次の方法を用いる。

(1) ピーク高さ測定法

(i) ピーク高さ法 ピークの頂点から記録紙の横軸へ下ろした垂線とピークの両すそを結ぶ接線（基線）との交点から頂点までの長さを測定する。

(ii) 自動ピーク高さ法 検出器からの信号をデータ処理装置を用いてピーク高さとして測定する。

(2) ピーク面積測定法

(i) 半値幅法 ピーク高さの中間におけるピーク幅にピーク高さを乗じる。

(ii) 自動積分法 検出器からの信号をデータ処理装置を用いてピーク面積として測定する。

システム適合性

システム適合性は、クロマトグラフィーによる分析法には不可欠の項目であり、医薬品の試験に使用するシステムが、当該分析法の適用を検討したときと同様に、試験を行うのに適切な性能で稼働していることを一連の品質試験ごとに確かめることを目的としている。システム適合性の試験方法と適合要件は、医薬品の品質規格に設定した試験法の中に規定されている必要がある。規定された適合要件を満たさない場合には、そのシステムを用いて所定の品質試験を行ってはならない。

システム適合性は、基本的に「システムの性能」及び「システムの再現性」で評価されるが、純度試験においてはこれらに加えて「検出の確認」が求められる場合がある。

(1) 検出の確認

純度試験において、対象とする不純物等のピークがその規格限度値レベルの濃度で確実に検出されることを確認することによって、使用するシステムが試験の目的を達成するために必要な性能を備えていることを検証する。

定量的試験では、通常、「検出の確認」の項を設け、規格限度値レベルの溶液を注入したときのレスポンスの幅を規定して、限度値付近でレスポンスが直線性をもつことを示す。なお、限度試験のように、規格限度値と同じ濃度の標準溶液を用いて、それとの比較で試験を行う場合や、限度値レベルでの検出が「システムの再現性」などで確認できる場合には「検出の確認」の項は設けなくてもよい。

(2) システムの性能

被検成分に対する特異性が担保されていることを確認することによって、使用するシステムが試験の目的を達成するために必要な性能を備えていることを検証する。

定量法では、原則として、被検成分と分離確認用物質（基本的には、隣接するピークが望ましい）との分離度、及び必要な場合には、溶出順で規定する。純度試験では、原則として、被検成分と分離確認用物質（基本的には、隣接するピークが望ましい）との分離度及び溶出順で規定する。また、必要な場合には、シンメトリー係数を併せて規定する。ただし、適当な分離確認用物質がない場合には、被検成分の理論段数やシンメトリー係数で規定しても差し支えない。

(3) システムの再現性

標準溶液あるいはシステム適合性試験用溶液を繰り返し注入したときの被検成分のレスポンスのばらつきの程度（精度）が試験の目的に適うレベルにあることを確認することによって、使用するシステムが試験の目的を達成するために必要な性能を備えていることを検証する。

システムの再現性の許容限度値は、通常、繰り返し注入における被検成分のレスポンスの相対標準偏差（RSD）として規定する。試料溶液の注入を始める前に標準溶液の注入を繰り返す形だけでなく、標準溶液の注入を試料溶液の注入の前後に分けて行う形や試料溶液の注入の間に組み込んだ形でシステムの再現性を確認してもよい。

繰り返し注入の回数は6回を原則とするが、グラジエント法を用いる場合や試料中に溶出が遅い成分が混在する場合など、1回の分析に時間がかかる場合には、6回注入時とほぼ同等のシステムの再現性が担保されるように、達成すべきばらつきの許容限度値を厳しく規定することにより、繰り返し注入の回数を減らしてもよい。

システムの再現性の許容限度値は、当該分析法の適用を検討した際のバリデーションデータに基づき、適切なレベルに設定する。

試験条件の変更に関する留意事項

医薬品各条の試験条件のうち、カラムの内径及び長さ、充てん剤の粒径、カラム温度、移動相の組成比、移動相の緩衝液組成、移動相の pH、移動相のイオン対形成剤濃度、移動相の塩濃度、切り替え回数、切り替え時間、グラジエントプログラム及びその流量、誘導体化試薬の組成及び流量、移動相の流量並びに反応時間及び化学反応槽温度は、システム適合性の規定に適合する範囲内で一部変更することができる。

用語

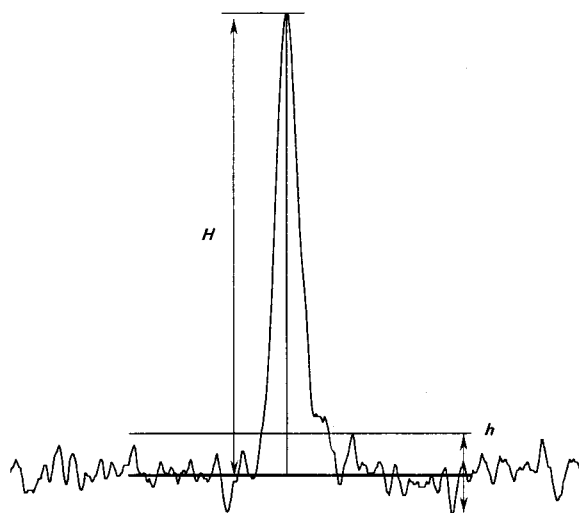
S/N比 次の式で定義する。

$$S/N = \frac{2H}{h}$$

H ：対象物質のピークの基線（バックグラウンドノイズの中央値）からのピーク高さ

h ：対象物質のピークの前後における試料溶液または溶媒ブランクのクロマトグラムのバックグラウンドノイズの幅

なお、基線及びバックグラウンドノイズは対象物質のピーク高さの中心におけるピーク幅の20倍に相当する範囲で測定する。また、溶媒ブランクを用いる場合、対象物質が溶出する位置付近で、上記とほぼ同様の範囲で測定する。



シンメトリー係数 クロマトグラム上のピークの対称性の度合いを示すもので、シンメトリー係数 S として次の式で定義する。

$$S = \frac{W_{0.05h}}{2f}$$

$W_{0.05h}$: ピークの基線からピーク高さの 1/20 の高さにおけるピーク幅。

f : $W_{0.05h}$ のピーク幅をピークの頂点から記録紙の横軸へ下ろした垂線で二分したときのピークの立ち上がり側の距離。

ただし、 $W_{0.05h}$ 、 f は同じ単位を用いる。

相対標準偏差 通例、次の式により定義される相対標準偏差 (RSD) (%) で規定する。

$$RSD (\%) = \frac{100}{\bar{X}} \times \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2}{n-1}}$$

x_i : 測定値

\bar{X} : 測定値の平均値

n : 測定回数

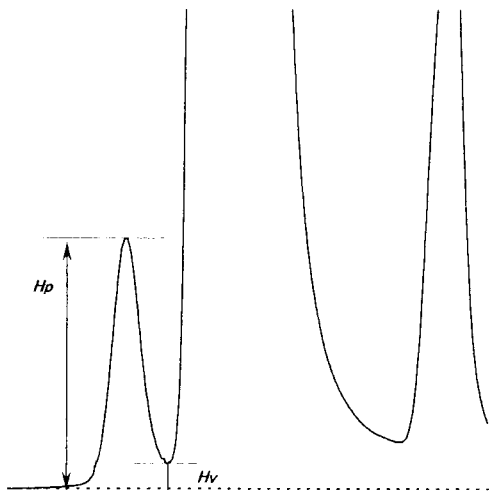
ピークの完全分離 ピークが完全に分離するとは、分離度 1.5 以上を意味する。ベースライン分離ともいう。

ピークバレー比 クロマトグラム上の二つのピークの間でベースライン分離が達成できないときに、それらのピーク間の分離の程度を示す指標となるもので、ピークバレー比 p/v として次の式で定義する。

$$p/v = \frac{H_p}{H_v}$$

H_p : マイナーピークのピークの基線からのピーク高さ

H_v : マイナーピークとメジャーピークの分離曲線の最下点 (ピークの谷) のピークの基線からの高さ



分離係数 クロマトグラム上のピーク相互の保持時間の関係を示すもので、分離係数 α として次の式で定義する。分離係数 α は、二つの物質の分配の熱力学的な差違の指標で、基本的には、二つの物質の分配平衡係数の比又は二つの物質の質量分布比の比であるが、二つの物質の保持時間の比としてクロマトグラムから求める。

$$\alpha = \frac{t_{R2} - t_0}{t_{R1} - t_0}$$

t_{R1} , t_{R2} : 分離度測定に用いる二つの物質の保持時間。ただし, $t_{R1} < t_{R2}$.

t_0 : 移動相のカラム通過時間 ($k=0$ の物質の試料注入時からピークの頂点までの時間)

分離度 クロマトグラム上のピーク相互の保持時間とそれぞれのピーク幅との関係を示すもので, 分離度 R_S として次の式で定義する.

$$R_S = 1.18 \times \frac{t_{R2} - t_{R1}}{W_{0.5h1} + W_{0.5h2}}$$

t_{R1} , t_{R2} : 分離度測定に用いる二つの物質の保持時間。ただし, $t_{R1} < t_{R2}$.

$W_{0.5h1}$, $W_{0.5h2}$: それぞれのピークの高さの midpoint におけるピーク幅.

ただし, t_{R1} , t_{R2} , $W_{0.5h1}$, $W_{0.5h2}$ は同じ単位を用いる.

理論段数 カラム中における物質のバンドの広がり具合を示すもので, 通例, 理論段数 N として次の式で定義する.

$$N = 5.54 \times \frac{t_R^2}{W_{0.5h}^2}$$

t_R : 物質の保持時間

$W_{0.5h}$: ピーク高さの midpoint におけるピーク幅.

ただし, t_R , $W_{0.5h}$ は同じ単位を用いる.

注意: 標準被検試料, 内標準物質, 試験に用いる試薬及び試液は測定妨げとなる物質を含まないものを用いる.

一般試験法の部 2. 01 ガスクロマトグラフィーの条を次のように改める.

2.02 ガスクロマトグラフィー

ガスクロマトグラフィーは, 適当な固定相を用いて作られたカラムに, 試料混合物を注入し, 移動相として気体 (キャリアーガス) を用い, 固定相に対する保持力の差を利用してそれぞれの成分に分離し, 分析する方法であり, 気体試料又は気化できる試料に適用でき, 物質の確認, 純度の試験又は定量などに用いる.

与えられたカラムに注入された混合物は各成分に固有の比率 k で, 移動相と固定相に分布する.

$$k = \frac{\text{固定相に存在する量}}{\text{移動相に存在する量}}$$

この比率 k と移動相のカラム通過時間 t_0 ($k=0$ の物質の試料注入時からピークの頂点までの時間) 及び保持時間 t_R (測定試料の注入時からピークの頂点までの時間) との間には次の関係があるので, 同一条件では, 保持時間は物質に固有の値となる.

$$t_R = (1+k)t_0$$

装置

通例, キャリヤーガス導入部及び流量制御装置, 試料導入装置, カラム, カラム恒温槽, 検出器及び記録装置からなり, 必要ならば燃焼ガス, 助燃ガス及び付加ガスなどの導入装置並びに流量制御装置, ヘッドスペース用試料導入装置などを用いる. キャリヤーガス導入部及び流量制御装置は, キャリヤーガスを一定流量でカラムに送るもので, 通例, 調圧弁, 流量調節弁及び圧力計などで構成される. 試料導入装置は, 一定量の試料を正確に再現性よくキャリヤーガス流路中に導入するための装置で, 充てんカラム用とキャピラリーカラム用がある. なお, キャピラリーカラム用試料導入装置には, 分割導入方式と非分割導入方式の装置がある. 通例, カラムは, 充てんカラム及びキャピラリーカラムの二種類に分けられる. 充てんカラムは, 一定の大きさにそろえたガスク

ロマトグラフィー用充てん剤を不活性な金属、ガラス又は合成樹脂などの管に均一に充てんしたものである。なお、充てんカラムのうち、内径が1 mm以下のものは、充てんキャピラリーカラム（マイクロパックドカラム）ともいう。キャピラリーカラムは、不活性な金属、ガラス、石英又は合成樹脂などの管の内面にガスクロマトグラフィー用の固定相を保持させた中空構造のものである。カラム恒温槽は、必要な長さのカラムを収容できる容積があり、カラム温度を一定の温度に保つための温度制御機構を持つものである。検出器は、カラムで分離された成分を検出するもので、アルカリ熱イオン化検出器、炎光光度検出器、質量分析計、水素炎イオン化検出器、電子捕獲検出器、熱伝導度検出器などがある。記録装置は検出器により得られる信号の強さを記録するものである。

操 作 法

別に規定するもののほか、次の方法による。装置をあらかじめ調整した後、医薬品各条に規定する操作条件の検出器、カラム及びキャリアーガスを用い、キャリアーガスを一定流量で流し、カラムを規定の温度で平衡にした後、医薬品各条に規定する量の試料溶液又は標準溶液を試料導入装置を用いて系内に注入する。分離された成分を検出器により検出し、記録装置を用いてクロマトグラムとして記録させる。

確認及び純度の試験

確認は、試料の被検成分と標準被検成分の保持時間が一致すること又は試料に標準被検成分を添加しても、試料の被検成分のピークの形状が崩れないことにより試験を行う。

純度は、通例、試料中の混在物の限度に対応する濃度の標準溶液を用いる方法又は面積百分率法により試験を行う。別に規定するもののほか、試料の異性体比は面積百分率法により求める。

面積百分率法は、クロマトグラム上に得られた各成分のピーク面積の総和を100とし、それに対するそれぞれの成分のピーク面積の比から組成比を求める。ただし、正確な組成比を得るためには、混在物の主成分に対する感度係数によるピーク面積の補正を行う。

定 量

通例、内標準法によるが、適当な内標準物質が得られない場合は絶対検量線法による。定量結果に対して被検成分以外の成分の影響が無視できない場合は標準添加法による。

(1) 内標準法 内標準法においては、一般に、被検成分になるべく近い保持時間を持ち、いずれのピークとも完全に分離する安定な物質を内標準物質として選ぶ。医薬品各条に規定する内標準物質の一定量に対して標準被検試料を段階的に加えて数種の標準溶液を調製する。この一定量ずつを注入して得られたクロマトグラムから、内標準物質のピーク面積又はピーク高さに対する標準被検成分のピーク面積又はピーク高さの比を求める。この比を縦軸に、標準被検成分量、又は内標準物質質量に対する標準被検成分量の比を横軸にとり、検量線を作成する。この検量線は、通例、原点を通る直線となる。次に医薬品各条に規定する方法で同量の内標準物質を加えた試料溶液を調製し、検量線を作成したときと同一条件でクロマトグラムを記録させ、その内標準物質のピーク面積又はピーク高さに対する被検成分のピーク面積又はピーク高さの比を求め、検量線を用いて被検成分量を求める。

医薬品各条では、通例、上記の検量線が直線となる濃度範囲に入る一つの標準溶液及びこれに近い濃度の試料溶液を調製し、医薬品各条で規定するそれぞれの量につき、同一条件でガスクロマトグラフィーを行い被検成分量を求める。

(2) 絶対検量線法 標準被検試料を段階的にとり、標準溶液を調製し、この一定量ずつを正確に再現性よく注入する。得られたクロマトグラムから縦軸に標準被検成分のピーク面積又はピーク高さ、横軸に標準被検成分量をとって、検量線を作成する。この検量線は、通例、原点を通る直線となる。次に医薬品各条に規定する方法で試料溶液を調製する。次に検量線を作成したときと同一条件でクロマトグラムを記録させ、被検成分のピーク面積又はピーク高さを測定し、検量線を用いて被検成分量を求める。

医薬品各条では、通例、上記の検量線が直線となる濃度範囲に入る一つの標準溶液及びこれに近い濃度の試料溶液を調製し、医薬品各条で規定するそれぞれの量につき、同一条件でガスクロマトグラフィーを行い被検成分量を求める。この方法は全測定操作を厳密に一定の条件に保って行う。

(3) 標準添加法 試料の溶液から4個以上の一定量の液を正確にとる。このうちの1個を除き、採取した液に被検成分の標準溶液を被検成分の濃度が段階的に異なるように正確に加える。これらの液及び先に除いた1個の液をそれぞれ正確に一定量に希釈し、それぞれ試料溶液とする。この液の一定量ずつを正確に再現性よく注入して得られたクロマトグラムから、それぞれのピーク面積又はピーク高さを求める。それぞれの試料溶液に加えられた被検成分の濃度を算出し、横軸に標準溶液の添加による被検成分の増加量、縦軸にピーク面積又はピーク高さをとり、グラフにそれぞれの値をプロットし、関係線を作成する。関係線の横軸との交点と原点との距離から被検成分量を求める。なお、本法は、絶対検量線法で被検成分の検量線を作成するとき、検量線が、原点を通る直線であるときに適用できる。また、全測定操作を厳密に一定の条件に保って行う。

ピーク測定法

通例、次の方法を用いる。

(1) ピーク高さ測定法

(i) ピーク高さ法 ピークの頂点から記録紙の横軸へ下ろした垂線とピークの両すそを結ぶ接線（基線）との交点から頂点までの長さを測定する。

(ii) 自動ピーク高さ法 検出器からの信号をデータ処理装置を用いてピーク高さとして測定する。

(2) ピーク面積測定法

(i) 半値幅法 ピーク高さの midpoint におけるピーク幅にピーク高さを乗じる。

(ii) 自動積分法 検出器からの信号をデータ処理装置を用いてピーク面積として測定する。

システム適合性

2.01 液体クロマトグラフィーのシステム適合性の規定を準用する。

試験条件の変更に関する留意事項

医薬品各条の試験条件のうち、カラムの内径及び長さ、充てん剤の粒径、固定相の濃度又は厚さ、カラム温度、昇温速度、キャリアーガスの種類及び流量、スプリット比は、システム適合性の規定に適合する範囲内で一部変更することができる。また、ヘッドスペース用試料導入装置及びその操作条件は、規定の方法以上の真度及び精度が得られる範囲内で変更することができる。

用語

2.01 液体クロマトグラフィーの用語の定義を準用する。

注意: 標準被検試料、内標準物質、試験に用いる試薬及び試液は測定の影響となる物質を含まないものを用いる。

一般試験法の部 2. 48 水分測定法（カールフィッシャー法）の条 1. 容量滴定法の項試液及び標準液の調製法の（1）水分測定用試液の目を次のように改める。

2.48 水分測定法（カールフィッシャー法）

1. 容量滴定法

試液及び標準液の調製法

(1) 水分測定用試液

調製 (i), (ii) 又は (iii) のいずれかの方法により調製する。なお、安定化等の性能の向上を目的として添加剤を追加する場合は、規定の方法と同等の結果を与えることを検証した上で使用することができる。

一般試験法の部 2. 49 旋光度測定法の条を次のように改める。

2.49 旋光度測定法

旋光度測定法は、試料の旋光度を旋光計によって測定する方法である。

一般に光線の振動は、進行の方向に垂直に起こるが、通常の光線では、その振動方向は限定されない。しかし、一般に偏光といわれる平面偏光では、振動は進行方向を含む一平面内にもみ起こり、このような光線は、偏光面を有するという。薬品又はその溶液には、偏光面を右又は左に回転させる性質を持つものがある。この性質を光学活性又は旋光性といい、物質の化学構造に関係がある。

旋光度は、光学活性物質又はその溶液が偏光面を回転する角度で、旋光計によって測定する。この値は測定管の層長に比例し、溶液の濃度、温度及び波長に關係する。旋光の性質は、偏光の進行方向に向き合って、偏光面を右に回転するものを右旋性、左に回転するものを左旋性とし、偏光面を回転する角度を示す数字の前に、それぞれ、記号+ 又は-をつけて示す。例えば、 $+20^\circ$ は右に 20° 、 -20° は左に 20° 回転することを意味する。

旋光度 α'_x とは、特定の単色光 x (波長又は名称で記載する) を用い、温度 $t^\circ\text{C}$ で測定したときの旋光度を意味し、その測定は、通例、温度は 20°C 又は 25°C 、層長は 100 mm 、光線はナトリウムスペクトルの D 線で行う。

比旋光度 $[\alpha]'_x$ は、次の式で表す。

$$[\alpha]'_x = 100 \alpha / lc$$

t : 測定時の温度

x : 用いたスペクトルの特定の単色光の波長又は名称 (D 線を用いたときは、D と記載する。)

α : 偏光面を回転した角度

l : 試料溶液の層、すなわち、測定に用いた測定管の長さ (mm)

c : 日本薬局方では、溶液 1 mL 中に存在する薬品の g 数である。液状薬品を溶液としないでそのまま用いたときは、その密度である。ただし、別に規定するもののほか、この密度の代わりに、その比重を用いる。

医薬品各条で、例えば $[\alpha]_D^{20} : -33.0 \sim -36.0^\circ$ (乾燥後、 1 g 、水、 20 mL 、 100 mm) とは、本品を乾燥減量の項に規定する条件で乾燥し、その約 1 g を精密に量り、水に溶かし正確に 20 mL とし、この液につき、 20°C 、層長 100 mm で測定するとき、 $[\alpha]_D^{20}$ が $-33.0 \sim -36.0^\circ$ であることを示す。

一般試験法の部 4. 05 微生物限度試験法の条を次のように改める。

4.05 微生物限度試験法

微生物限度試験法には生菌数試験及び特定微生物試験が含まれる。原料又は製品の任意の異なる数箇所 (又は部分) から採取したものを混和し、試料として試験を行う。試料を液体培地で希釈する場合は、速やかに試験を行う。また、本試験を行うに当たっては、バイオハザード防止に十分に留意する。

I. 非無菌製品の微生物学的試験: 生菌数試験

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。

1. 序文

本試験は、好氣的条件下で発育可能な中温性の細菌及び真菌を定量的に測定する方法である。

本試験は、原料や製剤が既定の微生物学的品質規格に適合するか否かを判定することを主目的としたものであ

る。採取試料数も含めて指示通りに試験を実施し、結果を判定する。

有効成分として生菌を含む製品には、本試験を適用しない。

局方試験法との同等性が示されている場合は、自動化法を含む別の微生物学的方法を用いてもよい。

2. 基本手順

生菌数測定は、被験製品への外部からの微生物汚染を回避するように設計された条件下で行う。汚染を回避するための予防措置は、試験で検出しようとしているいかなる微生物に対しても影響を与えてはならない。

被験製品が抗菌活性を有する場合は、この抗菌活性を可能な限り除去又は中和する。この目的のために不活化剤を用いる場合は、その有効性と微生物に対する毒性がないことを確認する。

試料の調製に界面活性剤を使用する場合は、微生物に対する毒性がないこと、及び用いる不活化剤との間に相互作用がないことを確認する。

3. 生菌数測定法

通常はメンブランフィルター法又はカンテン平板法を用いる。最確数（MPN）法は概して精度に欠ける菌数測定法ではあるが、バイオーバーデン（汚染菌数）が非常に少ない製品群に対しては最適な方法となることもある。

製品の特性や要求される微生物限度値などに基づいて測定法を選択するが、選択した測定法は、規格に適合していることを判断するのに十分な試料量を試験できるものでなければならない。また、選択した方法の適合性を確認する。

4. 培地性能及び測定法の適合性

4.1. 一般要件

被験製品存在下における微生物検出能力を確認する。

また、試験結果に影響を及ぼすような試験法の変更や製品の処方変更があった場合には、再度、適合性を確認する。

4.2. 試験菌の調製

試験菌は標準化された安定な懸濁液を使用するか、又は次に示す手順で調製する。

なお、試験に用いる微生物は、最初のマスターシードロットからの継代数5回を超えないように、シードロット培養管理手法（シードロットシステム）を用いて管理する。細菌及び真菌の各試験菌について、表 4.05-I-1 に示す条件でそれぞれ個別に培養する。

試験菌懸濁液の調製には、pH7.0 のペプトン食塩緩衝液又は pH7.2 のリン酸緩衝液を用いる。*Aspergillus niger* の胞子を懸濁させるために、緩衝液にポリソルベート 80 を 0.05% 加えても良い。懸濁液は 2 時間以内、又は 2 ~ 8℃ に保存する場合は 24 時間以内に用いる。*Aspergillus niger* 又は *Bacillus subtilis* の栄養型細胞の新鮮懸濁液を調製して希釈する代わりに、胞子懸濁液又は芽胞懸濁液を調製し、接種菌液として使用できる。それぞれの懸濁液は、保証された期間内は 2 ~ 8℃ で保存できる。

4.3. 陰性対照

試験状態を確認するために、試料液の代わりに希釈液を用いて陰性対照試験を実施する。微生物の発育があつてはならない。

4.4. 培地性能

市販生培地についてはバッチごとに試験する。また、乾燥粉末培地又は各成分より調製した培地については、調製バッチごとに試験する。

表 4.05-I-1 に示す微生物の少数（100 CFU 以下）をソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地の一部、ソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地及びサブロー・ブドウ糖カンテン培地の平板に接種する。菌株ごとに別個の液体培地の一部又は平板を用い、表 4.05-I-1 に示した条件でそれぞれ培養する。

カンテン培地では、接種菌の出現集落数は標準化された菌液の計測値の 1/2 から 2 倍以内でなければならない。

新鮮培養菌を用いて試験する場合は、有効性が確認された培地バッチで以前に得られた発育と同等の発育を示さなければならない。

液体培地では、有効性が確認された培地バッチで以前に得られた発育と同等の発育が認められなければならない。

4.5. 製品存在下での測定法の適合性

4.5.1. 試料の調製

試料の調製法は、被験製品の物理学的特性に依存する。以下に記載したいずれの方法も満足できるものでない場合は、別な方法を確立する。

水溶性製品

被験製品を pH7.0 のペプトン食塩緩衝液、pH7.2 のリン酸緩衝液又はソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地で溶解又は希釈する（通常は 10 倍希釈液を調製する）。必要ならば、pH6 ~ 8 に調整する。さらなる希釈が必要な場合は同じ希釈液で調製する。

水に不溶の非脂質製品

被験製品を pH7.0 のペプトン食塩緩衝液、pH7.2 のリン酸緩衝液又はソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地に懸濁させる（通常は 10 倍希釈液を調製する）。分散しやすくするために、例えばポリソルベート 80（濃度：1 g/L）のような界面活性剤を加えることができる。必要ならば、pH6 ~ 8 に調整する。さらなる希釈が必要な場合は同じ希釈液で調製する。

脂質製品

被験製品をろ過滅菌したミリスチン酸イソプロピルに溶解するか、又は、必要ならば 40℃以下（例外的な場合でも 45℃以下）に加温した最少必要量のポリソルベート 80 又は他の非阻害性の界面活性剤を用いて混合する。必要ならば水浴中で温度を保ちながら注意深く混和する。選定した希釈液をあらかじめ加温して加え、被験製品の 10 倍希釈液を調製する。乳化に必要な最短の時間で温度を保ちながら注意深く混和する。適切な濃度のポリソルベート 80、又は他の非阻害性の界面活性剤を含む同じ希釈液を用いて、更に 10 倍段階希釈系列を調製してもよい。

エアゾール状の液体又は固体

製品を無菌的にメンブランフィルター装置内又はさらなる試料採取のために滅菌容器内に移す。各被験容器から、全量あるいは定量噴霧の一定量のいずれかを用いる。

経皮吸収パッチ

経皮吸収パッチの保護被覆（“剥離ライナー”）を取り除き、粘着面を上向きにして滅菌ガラス又は滅菌プラスチックトレーの上に置く。パッチ同士が付着するのを防ぐために、滅菌した多孔性物質（例えば滅菌ガーゼ）で粘着面を覆う。ポリソルベート 80 及び/又はレンチンなどの不活化剤を含む適当量の選定した希釈液にパッチを移し、少なくとも 30 分間激しく振とうする。

4.5.2. 接種及び希釈

100 CFU 以下の接種菌を得るのに十分な量の試験菌懸濁液を 4-5-1 で調製した試料液及び対照（試料を含まない）に加える。接種する試験菌懸濁液の量は、試料液量の 1%を超えてはならない。

製品からの許容可能な微生物回収結果を得るために、最も低い希釈率の試料液を用いて試験する。抗菌活性又は低溶解度のために、最も低い希釈率の試験法を使えない場合は、更に適切な試験手順を確立する。

試料による発育阻止が避けられない場合には、中和、希釈又はろ過の後に試験菌懸濁液を加えてもよい。

4.5.3. 抗菌活性の中和／除去

4.5.2.及び 4.5.4.に示した手順に従って試験を行い、試料液から回収された菌数と、対照から回収された菌数とを比較する。

発育が阻害される場合（試料液からの回収菌数が、対照からの回収菌数の 1/2 未満の場合）は、正しい結果を得るために、生菌数測定の方法を変更する。方法の変更には、例えば（1）希釈液又は培地の増量、（2）特異的

又は一般的な中和剤の希釈液への添加，(3) 膜ろ過，又は(4) 上記の手段の組み合わせが含まれる。中和剤：抗菌剤の活性を中和するため，中和剤を用いることができる(表 4.05-I-2)。中和剤は，選定した希釈液又は培地に，可能な限り滅菌前に添加する。中和剤を用いた場合は，その有効性と微生物に対する毒性がないことを，製品を含まずに中和剤のみを加えたブランク試験で確認する。

適切な中和法が確立できない場合には，その製品のもつ殺菌活性のために，接種菌が分離できないと見なす。したがって，その製品が接種菌と同種の菌やその近縁種によって汚染されている可能性は低いと考える。しかし，その製品がこれらの微生物の一部を阻害するだけで，試験菌株以外の菌株は阻害しない可能性もあるので，微生物の発育とその許容基準に見合った最も低い濃度で試験を行う。

4.5.4. 製品存在下での微生物回収

表 4.05-I-1 に記載されている微生物ごとに個別に試験する。添加した微生物のみを対象に測定する。

4.5.4.1. メンブランフィルター法

メンブランフィルターは，孔径 0.45 μm 以下のものを使用する。フィルターの材質は，被験試料の成分によって細菌捕集能力が影響されないように注意して選択する。表 4.05-I-1 の微生物ごとに 1 枚のメンブランフィルターを用いる。

4.5.1 ～ 4.5.3 の記載どおりに調製した試料の適量(可能であれば製品の 1 g 相当量，又は多数の集落の形成が予測される場合はそれ以下)をメンブランフィルターに移して直ちにろ過し，適量の希釈液でメンブランフィルターを洗浄する。

メンブランフィルターを，総好気性微生物数(total aerobic microbial count ; TAMC)測定用としてソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地の表面に，総真菌数(total combined yeasts/moulds count ; TYMC)測定用としてサブロー・ブドウ糖カンテン培地の表面に移す。表 4.05-I-1 に示した条件で平板を培養後，集落数を測定する。

4.5.4.2. カンテン平板法

カンテン平板法は，各培地に対して少なくとも 2 枚の平板を用いて実施し，結果はそれぞれの平板の測定菌数の平均値を用いる。

4.5.4.2.1. カンテン平板混釈法

直径 9 cm のペトリ皿を使用する場合，4.5.1. ～ 4.5.3. の記載どおりに調製した試料を 1 mL 分注する。これにあらかじめ 45°C 以下に保温した 15 ～ 20 mL のソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地又はサブロー・ブドウ糖カンテン培地で混和する。より大きなペトリ皿を用いる場合は，それに応じてカンテン培地量を増加する。表 4.05-I-1 に挙げた微生物ごとに少なくとも 2 枚のペトリ皿を用いる。

表 4.05-I-1 に示した条件で平板培地を培養する。培地ごとに菌数の算術平均をとり，集落数を算出する。

4.5.4.2.2. カンテン平板表面塗抹法

直径 9 cm のペトリ皿を使用する場合は，15 ～ 20 mL のソイビーン・カゼイン・ダイジェストカンテン培地又はサブロー・ブドウ糖カンテン培地を約 45°C で加えて固化させ，例えば，層流式キャビネット又は恒温器の中で平板培地の表面を乾燥させる。より大きなペトリ皿を用いる場合は，それに応じてカンテン培地量を増加する。表 4.05-I-1 に挙げた微生物ごとに少なくとも 2 枚のペトリ皿を用いる。4.5.1. ～ 4.5.3. の記載どおりに試料を調製し，その 0.1 mL 以上を正確に測定して培地表面全体に広げる。4.5.4.2.1. の規定どおりに培養し，測定する。

4.5.4.3. 最確数(MPN)法

MPN 法の精度及び正確さは，メンブランフィルター法又はカンテン平板法よりも劣っている。特にかびの測定に対しては信頼性が低い。これらの理由のために，MPN 法は他に利用できる方法がない状況下での TAMC の測定に用いられる。本法を適用する場合は，以下のように行う。

4.5.1. ～ 4.5.3. の記載どおりに，製品の少なくとも 3 連続の 10 倍段階希釈系列を調製する。各希釈段階からそれぞれ 1 g 又は 1 mL ずつをとり，ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地が 9 ～ 10 mL 入っている 3 本の試