

液体クロマトグラフ法における「試験の再現性」について

岩上正蔵*, 山下治夫*, 岡田敏史#

On the "System Repeatability" Specified in the Operating Conditions for HPLC Assay in JP Monographs

Shozo Iwagami*, Haruo Yamashita* and Satoshi Okada#

The system repeatability tests in the operating conditions for the HPLC assay by absolute calibration method are specified in 9 monographs in JP13 (Part 1). The reasonableness of the specified system repeatability, expressed in relative standard deviation(%), is discussed in consideration with the specified content and also the probability of Type 1 error(α). For simplification, it was assumed that the variance due to the analytical system(σ_s^2) is equal to that due to other error sources(σ_o^2). Based on the above considerations, it was concluded that the present specification of system repeatability(σ_s) in JP monographs is not always reasonable and some of them should be reexamined following to the described considerations in the text.

Keywords: System Repeatability, System Suitability, HPLC Operating Conditions, Japanese Pharmacopoeia

日局医薬品各条の定量法において、液体クロマトグラフ法が適用される品目中、絶対検量線法が用いられる品目について、操作条件中に「試験の再現性」の項が規定されている。これは、試料注入部、送液部、分離部、検出部、データ処理部など、複数のユニットから構成される液体クロマトグラフ装置について、装置の構成部分それぞれについて、その妥当性を検証するのではなく、分析系が全体として正常に稼働しているか日常的に点検する必要があるとの考え方に基づくものであり、USP においてはシステム適合性試験 (System Suitability) として、同様な試験が規定されている。

日局においては、従来、「試験の再現性」を規定するにあたって、試料処理を含む全体としての試験精度、製品中の含量の変動及び含量規格などと切り離して、単純にシステムの再現精度を規定してきたきらいがある。日局13で『分析法バリデーション』が参考情報として規定され、今後の日局医薬品各条における規格及び試験法が、これを基準にその妥当性が検証されることになるので、「試験の再現性」についてどう考えるべきか考察を行った。

* 大阪府立公衆衛生研究所薬事指導部

To whom correspondence should be addressed: Satoshi Okada; Hoenzaka 1-1-43, Chuo-ku, Osaka 540-0006, Japan; Tel: 06-941-1533; Fax: 06-942-0716; E-mail: okada@nihs.go.jp
本ステートメントは、日本薬学会第118年会レギュラトリーサイエンス討論会 (1998.4.京都) にて発表した内容をまとめたものである。

1. 「試験の再現性」と含量規格

現在、日局第一部には原薬7、製剤2の計9品目の各条医薬品で絶対検量線法による液体クロマトグラフ法が適用されており、その操作条件中に「試験の再現性」が規定されている (Table 1)。Table 1 にみられるように、5回又は6回の繰り返し試験による相対標準偏差は最も厳しいもので0.8%以下 (トコフェロール)、最も緩いもので2.5%以下 (メトトレキサート) と規定されている。このうち、含量規格幅の狭い品目については、規定された相対標準偏差の値が、含量規格幅との関係で統計的に無理があるのではないかと考えられるものもある。

「試験の再現性」で規定される相対標準偏差は、本来、含量の規格幅、製剤含量のバラツキ、生産者危険率 (第1種の過誤: 分析法のバラツキにより、規格内であるにも拘わらず、規格外と判定されてしまう誤り) をどのように設定するかなどにより決められるべきものと思われる。

以下では、それらの関係について考察した。

2. 試験の再現精度 σ_s の推定

ある試験による分析の確かさを標準偏差 σ_t で表すものとする、 σ_t は、装置など分析システムに基づくバラツキ σ_s と試料調製法などそれ以外に起因するバラツキ σ_o を用いて、分散の和として表される¹⁾。

$$\sigma_t^2 = \sigma_s^2 + \sigma_o^2 \quad (1)$$

Table 1 System Repeatability Specified in the Monographs Listed in the JP XIII (Part I)

Monograph	Specified content (%)	Specification of system repeatability		
		Detection method	Number of measurement	Specified R.S.D.(%)
Calcium Folate	95.0 - 102.0 %	UV 254nm	6	Peak Area \leq 2.0 %
Carbidopa	\geq 98.0 %	UV 280nm	6	Peak Area \leq 1.0 %
Chlorpropamide Tablets	95 - 105 %	UV 240nm	6	Peak Area \leq 1.5 %
Methotrexate	94.0 - 102.0 %	UV 302nm	6	Peak Area \leq 2.5 %
Sodium Iopodate Capsules	93 - 107 %	UV 254nm	6	Peak Area \leq 1.5 %
Sucralfate	34.0 - 43.0 %	Refractive Index	6	Peak Area \leq 2.0 %
Tocopherol	96.0 - 102.0 %	UV 292nm	5	Peak Height \leq 0.8 %
Tocopherol Acetate	96.0 - 102.0 %	UV 284nm	5	Peak Height \leq 0.8 %
Tocopherol Calcium Succinate	96.0 - 102.0 %	UV 284nm	5	Peak Height \leq 0.8 %

σ_t は、試料の採取、抽出、ろ過、希釈など一連の前処理操作を経て、機器または装置による測定に至る、試験の全過程に由来するバラツキを意味し、「分析法バリデーション」での「精度」に相当する。一方、 σ_s は、複数のユニットから構成される分析装置に由来するバラツキを意味し、日局で規定される「試験の再現性」に相当する。

では、製品の含量規格が95-105%であるとき、システムの再現精度 σ_s はどの範囲にあればよいのか考えてみる。通常、医薬品の含量規格は表示量に対する相対値(%)で表されるので、標準偏差 σ を相対標準偏差 γ に置き換えて考えてみる。いま、含量中心が100%であり、測定値が正規分布すると仮定すれば、99%信頼限界は、中心値 $\pm 2.58\gamma$ の範囲内にあるので、

$$\gamma_t = (100 - 95) / 2.58 = 1.94(\%) \quad (2)$$

と計算される。すなわち、危険率1%で95-105%の含量規格が満足されるためには、含量評価のための試験法の精度 γ_t は、1.94%以下であることが求められる。この場合、バラツキ(標準偏差) σ を相対値(%)で考え、含量規格の中心値 $X = 100\%$ と考えているため、

$$\gamma_t = (\sigma_t / X) \times 100 \quad (3)$$

$$\gamma_t = \sigma_t \quad (4)$$

式(3)及び(4)が成立している。以下では、一般的な表現とするために、標準偏差 σ を用いて議論を進める。

一方、装置又は分析システムに由来するバラツキ σ_s は、前述のように、試験法全体のバラツキ σ_t の一部であり、システム外のバラツキ σ_e との間に式(1)のような関係がある。ここで、 $\sigma_s^2 = \sigma_e^2$ を仮定すると¹⁾、式(1)より

$$\sigma_t^2 = 2\sigma_s^2 \quad (5)$$

が得られる。したがって、式(2)、(5)より

$$\sigma_s = 1.37\% \quad (6)$$

となる。すなわち、ある製品の含量規格幅を95-105%に設定した場合、含量100%の製品を製造できたとしても、試

験法のバラツキがあるため、良品を不良品と誤って判断してしまう危険がある割合で存在する。この危険率を1%とした場合、試験法全体のバラツキ σ_t は1.94%以下であること、分析システム由来のバラツキ σ_s は1.37%以下であることが要求されることになる。

3. 含量規格と試験の再現精度の妥当性

上記のような考え方を基に、Table 1中の「クロロプロパミド錠」、「カルビドパ」などで規定されている試験の再現精度が、含量規格との関係で合理的に設定されているか、検証の結果を示した。それによれば、「クロロプロパミド錠」では、ほぼ妥当な値が設定されているが、ロット間変動が考慮されていないこと、「カルビドパ」では、試験の再現精度1.0%以下が規定されているのに対し、 $\sigma_s \leq 0.55\%$ (危険率:1%)と推定され、非常に厳しいシステム再現性が要求されることになることを示した。

また、上記の議論では、含量規格の中心が100%であると仮定したが、実際には製品のバラツキ、すなわち、ロット間変動を考慮する必要がある、この場合、 σ_s としてより厳しい値が要求されることを具体的に示した²⁾。

以上のように、「試験の再現性」で規定される相対標準偏差の値は、試験法における試料の前処理操作をはじめ、含量のロット間変動、含量規格幅、危険率をどのように設定するかなどにより、考慮されるべきものであることを示した。

文 献

- 1) Debesis E., Boehlert J., Givand T., Sheridan J.: "Submitting HPLC methods to the compendia and regulatory agencies", *Pharm. Tech.*, Sept., 120-137 (1982)
- 2) 岩上正蔵, 山下治夫, 岡田敏史, 医薬品研究, **29**, 544-549 (1998)