

知事承認審査のための
「規格及び試験方法」に関する
ガイドブック

— 染毛剤 —

平成 23 年 10 月作成

平成 31 年 3 月改訂

静岡県健康福祉部生活衛生局薬事課

静岡県環境衛生科学研究所

はじめに

- 本ガイドブックは、県知事に提出される医薬部外品「染毛剤」の製造販売承認申請の書類作成業務に役立てていただくための規格及び試験方法に関するガイドブックです。本書では、染毛剤に特有の項目について重点的に解説しています。
- 本書では、2剤型の酸化染毛剤の酸化染料を含む第一剤をモデルとしています。
- 本書の記載例では、医薬部外品原料規格を準用しています。日本薬局方を準用する場合は、試験法や試薬名等の記載に注意してください。
- 本ガイドブックにおいて、四角の枠で囲んだ部分は申請書類の記載例です。例文中の 注1、注2 …については、枠外に注記があります。そのほか、参考となる内容をまとめて記載しました。
- 文中の肩番号1)、2)…は、引用した通知、図書、又は文献等の番号です。
- 試験方法設定のための参考資料として、薄層クロマトグラフィーを用いた一斉分析法による有効成分の確認試験に関する検討事例を記載しました。

目 次

I	規格及び試験方法における設定項目	3
II	申請書の記載例と留意点・解説	4
1	性状	5
2	確認試験	6
3	示性値(pH)	8
4	遊離アルカリ	9
5	染毛試験	12
6	試薬・試液	13
7	備考	14
III	実測値に関する資料の記載例と留意点・解説	15
1	表紙	16
2	性状	17
3	確認試験	18
4	示性値(pH)	21
5	遊離アルカリ	22
6	染毛試験	24
7	陳述並びに署名	25
IV	試験方法の設定のための参考資料	
	TLC 一斉分析法による有効成分の確認試験に関する検討事例	26
V	参考文献	30

I 規格及び試験方法における設定項目

規格及び試験方法に記載する項目は、厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知「染毛剤製造販売承認申請書作成上の留意点について(平成27年3月25日付け薬食審査発0325第12号)」1の(7)により次のとおりである¹⁾。

- 1 第一剤、第二剤、あるいは第三剤の剤型ごとに、別々に設定する。
- 2 性状、有効成分の確認試験及び染毛試験は必ず設定する。
- 3 含量規格、示性値、遊離アルカリ、純度試験及び定量法等については、製品の特性に合わせて設定する。

項目	必ず設定する項目	製品の特性に合わせて設定する項目	本ガイドブックで例示した項目
含量規格		○	
性状	○		○
有効成分の確認試験	○		○
示性値		○	*○(pH)
純度試験		○	
遊離アルカリ		○	*○
染毛試験	○		○
定量法		○	

* pH 調整剤を添加剤として使用する場合は、製品規格に示性値を設定することが望ましく、必要に応じて規格及び試験方法に示性値(pH)を設定すること²⁾。

アルカリ剤が配合されていて、かつ、製品がアルカリ性である場合等、遊離アルカリを測定することが可能な場合に設定すること²⁾。

II 申請書の記載例と留意点・解説

申請書は、原則として、医薬部外品原料規格(以下、外原規)³⁾又は日本薬局方(以下、日局)⁴⁾に準じた記載方法とすること。本ガイドブックでは外原規に準じた記載としており、記載例では、外原規一般試験法を準用する場合の記載としている。

設定する全項目についての実測値を記載した試験成績書を添付資料として申請書とともに提出すること。

1 性状

【規格及び試験方法】

【試験名】 : 第一剤、性状 注1

【規格及び試験方法】

本品は〇〇色 注2 注3 の液で、△△のにおいがある。

【注記】

注1 性状の項目は必ず設定すること¹⁾。剤型(クリーム状、液状、粉末状等)、色等について記載すること²⁾。シリーズ製品の場合、性状については色調幅が広くても差し支えない。また、香調の記載は省略して差し支えない¹⁾。

注2 色に関する規格設定については、原則として、次のとおり、第十七改正日本薬局方原案作成要領(以下、日局要領)⁵⁾3.12.3 によること。

- ・ 色の表現は、通例、JIS Z8102:2001 物体色の色名によることとする。
- ・ 有彩色の基本名は、赤色、黄赤色、黄色、黄緑色、緑色、青緑色、青色、青紫色、紫色、赤紫色とする。そのほか、褐色、橙色、紅色、黄白色等を用いてもよい。れんが色、さけ色、すみれ色等の色をものにより例示する表現は、原則として用いない。
- ・ 無彩色の基本名は、白色(ほとんど白色を含む)、明るい灰色、灰色、暗い灰色、黒色とする。
- ・ 有彩色の明度及び彩度に関する形容詞は、ごくうすい、うすい、灰、暗い(又は暗)、ごく暗い、さえた(鮮)等を用いる。濃(濃い)、淡(うすい)、微(わずか)を使ってもよい。濃淡の順序は濃、淡、微の順とする。
- ・ 色相に関する形容詞は、帯赤(赤みの)、帯黄(黄みの)、帯緑(緑みの)、帯青(青みの)、帯紫(紫みの)を用いる。
- ・ 無色は、ほとんど無色を含む。「無色の澄明の液」は「無色澄明の液」と記載する。

注3 色の表現は、「白色～淡黄色」のような幅記載でもよいが、必要以上に広くしないこと。また、酸化による製剤の変色を理由とした幅記載は認められない。

2 確認試験

【規格及び試験方法】

【試験名】 : 第一剤、確認試験 [注1]

【規格及び試験方法】

(1) パラアミノフェノール及びオルトアミノフェノール [注2]

本品約1g、薄層クロマトグラフィー用パラアミノフェノール10mg及びオルトアミノフェノール(※1) [注3] 10mgに2-プロパノール/水/アンモニア水(28)混液(9:3:1)10 mLを加えて溶かし、亜硫酸水素ナトリウム0.1gを加えて振り混ぜ、それぞれ試料溶液、標準溶液(1)及び(2)とする [注4]。これらの液につき、薄層クロマトグラフィーにより試験を行う。

試料溶液及び各標準溶液1 μLずつ [注5] を薄層クロマトグラフィー用シリカゲルを用いて調製した薄層板 [注6] にスポットする。次にイソプロピルエーテル/アセトン/2-プロパノール混液(10:1:1)を展開溶媒として展開 [注7] した後、薄層板を風乾する。これをヨウ素蒸気中に放置して発色させるとき [注8]、試料溶液から得たRf値○付近のスポットは、標準溶液(1)から得た○○色のスポットと色調及びRf値が等しい [注9]。また、試料溶液から得たRf値△付近のスポットは、標準溶液(2)から得た△△色のスポットと色調及びRf値が等しい [注9]。

【注記】

[注1] 有効成分の確認試験は必ず設定すること¹⁾。また、原則として、全有効成分について行うこと²⁾。

特異性のある試験方法を採用すること。薄層クロマトグラフィー(TLC)やフォトダイオードアレイ検出器付き液体クロマトグラフィーによる紫外可視吸収スペクトル分析等を用いることができる。

[注2] 確認する成分名を記載すること。

[注3] 準用する公定試験法(本事例においては外原規一般試験法;日局一般試験法でもよい)に記載されていない試薬や試液には、※1、※2・・・、注1、注2・・・のように注釈番号を付け、その規格を試薬・試液の項に記載すること。注釈番号は規格及び試験方法の中での通し番号とすること。なお、有害な試薬の扱いについては、日局要領⁵⁾1.2に従うこととする。詳しくは、試薬・試液の項に示したので参照すること。

[注4] 試料溶液の調製方法(必要に応じて前処理方法)及び標準溶液の調製方法を記載すること。1つの試験法で同時に複数の成分を確認する場合、成分ごとに単独標準溶液を調製すること。標準溶液の濃度は、試料溶液の濃度と同程度となるよう

に調製するのが望ましい。

【注記:確認試験において TLC を用いる場合】

- 注5 試料溶液及び標準溶液のスポット量を記載すること。原点での広がりを防ぎ、検出感度と分離を向上させるため、なるべく少ないスポット量が望ましい。
- 注6 使用する薄層板は、商品名では記載しないこと。蛍光剤入りの薄層板を用いる必要がある場合は、その旨記載すること。
- 注7 展開距離は、外原規一般試験法においては、100mmであり、これを準用する場合は記載しなくてもよいが、展開距離を別に設定する場合、又は日局一般試験法を準用する場合は記載すること。展開距離を長くすることで分離が改善する場合がある。
- 注8 検出方法を明確に記載すること。検出方法は、できる限り特異性のある方法を採用すること。
- 注9 規格は、試料溶液から得たスポットが、同時に展開した標準溶液から得たスポットと色調及びRf値が一致することとする。

色調の表現は、性状の項に記載したとおり、原則として、日局要領⁵⁾に従う。外原規³⁾や衛生試験法・注解2010(以下、衛生試験法)⁶⁾等に記載された色調を使用してもよい。

参考値として Rf 値を記載する場合は、範囲記載とせず「約〇〇」、「〇〇付近」のように数値を記載し、小数点以下1桁程度まで表すこと。Rf 値は、添付資料の実測値に基づき設定すること。Rf 値は特異性を確保するため、0.2～0.8の範囲にあることが望ましい。

有効成分の含量違いなどの品目を同時に申請する場合で、同じ試験方法を用いる場合には、同じ有効成分の Rf 値や色調が一致していることが望ましい。

【参考】

TLC については、IV試験方法の設定のための参考資料として、TLC 一斉分析法による有効成分の確認試験に関する検討事例を掲載したので参考にされたい。

3 示性値(pH)

【規格及び試験方法】

【試験名】 : 第一剤、pH 注1

【規格及び試験方法】

○. ○～○. ○ 注2 注3

【注記】

注1 pH 調整剤を配合する場合は、示性値として pH を設定することが望ましい²⁾。

注2 希釈操作があれば記載すること。

注3 規格値は、添付資料の実測値に基づき設定し、小数点以下1桁程度まで表すこと。なお、特に理由がある場合を除き、pH の規格幅は「2」までとすること⁷⁾。通例、pH の規格は「実測値の平均±1」とする。

4 遊離アルカリ

【規格及び試験方法】

【試験名】 : 第一剤、遊離アルカリ [注1]

【規格及び試験方法】

本品約1.0gを精密に量りとり [注2]、水〇〇mL を加えて溶かし試料溶液とする。試料溶液を pH計を用いて [注3]、0.1mol/L塩酸 [注4] で滴定するとき、0.1mol/L塩酸の消費量を遊離アルカリとする。本品1gあたりの遊離アルカリ量は〇.〇～〇.〇 mL [注5] である。ただし、滴定の終点はpH△.△となった点とする [注3]。

$$\text{本品1gあたりの遊離アルカリ量(mL)} = A \times f \times 1 / W \quad \text{[注6]}$$

A: 試験に要した0.1mol/L塩酸の量(mL)

f: 0.1mol/L塩酸のファクター

W: 試料採取量(g)

【注記】

[注1] アルカリ剤が配合されていて、かつ、製品がアルカリ性である場合等、遊離アルカリを測定することが可能な場合に設定すること²⁾。

[注2] 試料を質量で量り取る場合は「精密に」、容量で量り取る場合は「正確に」量り、希釈後一定量を試験に供する場合は、「正確に」希釈を行い、「正確に」一部をとること。逆滴定の場合は、酸の溶液を「正確に」加える。

[注3] 終点の検出方法を記載すること。機器を用いる場合は、できる限りその旨を記載することが望ましい。電位差滴定を用いる場合は、pHの変化率の極大となる点を終点とするか、又は、あらかじめ設定したpHに達した点を終点とするかを記載する。前者では、極大点が複数ある場合はどの極大点を終点とするのかを記載すること。後者では、終点とするpHについても記載する。指示薬を用いる場合は、試料溶液の色及び指示薬の変色範囲に注意し、終点を明瞭に検出できる方法とすることとし、終点の色調又は色調の変化を記載すること。

[注4] 滴定液の濃度の単位は「N」でなく、「mol/L」とする。

[注5] 規格値は、添付資料の試験実測値に基づきロット間のばらつき、試験実施毎のばらつき等を考慮して設定する⁷⁾。規格の幅は、±10%程度とし、必要以上に広くしないこと。

[注6] 計算式を記載すること。

【規格設定について】

アルカリ性を示す製品は、皮膚一次刺激性反応、眼刺激性反応または毛髪損傷の原因となりうることから、製品の品質を一定に保つために、アルカリ成分の含量について適切な管理が必要である。しかしながら、染毛剤のように多数の成分を含む試料では共存成分の影響を受け、必ずしもアンモニアやモノエタノールアミン等のアルカリ成分の含量を正確に分析できない場合があると考えられる。そのため、製品中の遊離アルカリの総量を中和するのに要する酸の量として規格設定し、品質管理する必要があると考えられる。この考えは、脱色剤において定量法を設定する必要があるアルカリ剤のアンモニア水とアンモニア化合物を同時に配合する場合等で、定量するための分離が不可能な時は、総アルカリ量を定量することで差し支えないとされている⁸⁾ことや、パーマメント・ウェーブ用剤品質規格⁹⁾のアルカリの規格において製品中の個々の成分の量ではなく、製品全体の中和滴定による酸の消費量で規定されていることと同様である。

【終点の検出法について】

遊離アルカリ試験における酸塩基滴定(中和滴定、pH 滴定)の終点の検出には、電氣的検出法(電位差滴定法)又は指示薬法を用いることができる。いずれの方法でも、滴定量と pH(又は電位)についての滴定曲線を作成し、終点の設定やその判定方法、滴定液の設定が妥当であることを確認すること。また、試料溶液、ブランク溶液とアルカリ成分のみを含む溶液について測定を行い、共存成分の影響の程度をあらかじめ確認しておく必要がある。

(1) 電位差滴定法

酸塩基滴定の電位差滴定法における終点は、滴定量差に対するpHの変化の比の極大となる点又は当量点に相当するpHの値から求める³⁾。この方法は、着色試料にも適用でき、かつ、客観的に終点を決定することができる。終点の検出には、自動滴定装置による自動検出法の利用が便利である。自動検出法を用いる場合でも、共存成分の影響で当量点付近におけるpHの変化が小さくなる場合等は、滴定曲線から適当なpHを終点として設定する。

試料に過剰の酸を加えて試料中のアルカリを中和させ、未反応の酸をアルカリの滴定液で滴定する逆滴定も可能である。ただし、必ずしも共存成分の影響を相殺できるといわけではないのであらかじめ確認すること。

(2) 指示薬による方法

試料溶液が着色又は懸濁していないか、あるいは指示薬の変色が明瞭に確認でき、当量点付近のpHに変色域がある指示薬を用いることができる場合には、終点の検出は指示薬法でも可能である。一般に染毛剤に配合される強アンモニア水やモノ

エタノールアミンのような弱塩基を強酸である塩酸で滴定すると、当量点のpHは酸性側となるため、終点の検出に用いる指示薬は、変色域が酸性側のメチルオレンジやメチルレッドとなる。申請書には、終点の色調又は色調の変化を記載すること。

【成分及び分量又は本質におけるアルカリ成分の記載について】

強アンモニア水、モノエタノールアミン、水酸化ナトリウム等のアルカリ成分の配合目的は、「pH 調整剤」ではなく「アルカリ剤」とし、実生産で変動がないのならば、分量は「適量」ではなく具体的に記載することが望ましい。

【そのほかの記載例】

【規格及び試験方法】

【試験名】 : 第一剤、遊離アルカリ [注1]

【規格及び試験方法】

本品1mLを正確に量りとり [注2]、水〇〇mL を加えて溶かす。この液に、0.05mol/L硫酸 [注4] を正確に◇◇mL加えてよく攪拌し、試料溶液とする。試料溶液を自動滴定装置を用いて [注3]、0.1mol/L水酸化ナトリウム液で滴定する。ただし、終点の検出は電氣的検出法の電位差滴定法で行い、pHの変化率の最大となる点を終点とする [注3]。同様の方法で空試験を行う。本品1mL あたりの遊離アルカリ量は〇.〇～〇.〇mL [注5] である。

本品1mL あたりの遊離アルカリ量(mL) = (B - A) × f [注6]

A: 本試験に要した0.1mol/L水酸化ナトリウム液の量(mL)

B: 空試験に要した0.1mol/L水酸化ナトリウム液の量(mL)

f: 0.1mol/L水酸化ナトリウム液のファクター

5 染毛試験

【規格及び試験方法】

【試験名】 : 第一剤、染毛試験 [注1]

【規格及び試験方法】

用法及び用量欄に記載した比率で混合した染色液に試験用白布 (JIS L 染色堅ろう度試験用添付白布 [注2]) を浸漬し、○℃で○分間放置する。その後よく水洗いし [注3]、○℃で乾燥 [注4] するとき、試験用白布はほぼ○○色 [注5] に染色される。 [注6]

【注記】

[注1] 染毛試験は必ず設定すること¹⁾。

[注2] 白布を購入する場合は、「単一繊維布 毛 1-1」と指定すること²⁾

[注3] 石けん、洗剤等を使うのは好ましくない²⁾。

[注4] 風乾、○℃、ヘアドライヤー等乾燥方法を記入すること²⁾。

[注5] 色調の表現は、性状の項に記載したとおり、原則として、日局要領⁵⁾に従う。

[注6] 用法及び用量欄において混合比率や塗布後の洗浄までの時間を幅記載している場合、記載した幅の範囲内で、具体的な数値を記載すること²⁾。

6 試薬・試液

【規格及び試験方法】

【試験名】 : 試薬・試液 注1

【規格及び試験方法】

(※1) オルトアミノフェノール

医薬部外品原料規格、ただし、含量98.0%以上のもの

【注記】

注1 規格及び試験方法に用いる全ての試薬及び試液等について、その規格を明確にすること¹⁾。例えば、外原規の一般試験法の試薬・試液の部に収載されている試薬以外の試薬を使用する場合には、外原規一般試験法の試薬・試液の項等に準拠して試薬の規格を明確にすること²⁾。

【有害な試薬の扱いについて】

有害な試薬の扱いについては、日局要領⁵⁾1.2に従い、次のとおりとする。

- ・ 次のような試薬については、使用を避けるか、もしくは使用量を最小限にする。
有害で試験者への曝露が懸念される試薬、有害作用及び残留性などで環境への負荷が大きい試薬、特殊な取扱いが必要な試薬(麻薬や覚醒剤等)。
- ・ 次の試薬は、原則として用いない。
水銀化合物、シアン化合物、ベンゼン、四塩化炭素、1, 2-ジクロロエタン、1, 1-ジクロロエテン、1, 1, 1-トリクロロエタン、1, 4-ジオキサン。
- ・ 次の試薬は、代替溶媒がない場合についてのみ用いることができる。
ハロゲン化合物(クロロホルム、ジクロロメタン等。クロロホルムとジクロロメタンのどちらも選択可能な場合はジクロロメタンを優先して選択する。)、二硫化炭素。

7 備考

【規格及び試験方法】

【試験名】 :備考 注1

【規格及び試験方法】

本規格及び試験方法は、別に規定するもののほか、医薬部外品原料規格 注2 の通則及び一般試験法を準用する。

【注記】

注1 規格及び試験方法欄の末尾に備考の項を設け、準用する試験法を記載すること²⁾。

注2 準用する試験法は、原則として、外原規又は日局とすること。

Ⅲ 実測値に関する資料の記載例と留意点・解説

実測値に関する資料は、規格及び試験方法に基づく実測値(原則として3ロット以上、1ロットにつき3回以上)に関する試験成績資料を添付すること¹⁾。

1 表紙

試験成績書 注1		
〇〇〇〇株式会社		
1 販売名:〇〇〇		
2 試験実施場所:所在地 施設名		
3 試験実施責任者:氏名		
4 試験実施日及び試験時の条件:平成〇年〇月〇日～平成〇年〇月△日		
試験実施日	室温(℃)	湿度(%)
平成〇年〇月〇日		
平成〇年〇月△日		
5 検体 注2 : ロット1 ロット番号 〇〇〇(平成×年×月〇日製造) ロット2 ロット番号 〇〇△(平成×年×月△日製造) ロット3 ロット番号 〇〇□(平成×年×月□日製造)		
6 試験方法:承認申請書の規格及び試験方法による。		

【注記】

注1 試験成績書には、試験場所、試験年月日、試験ロット製造年月日、試験時の条件、試験実施責任者等を記載する²⁾。

注2 検体は、原則として、実生産工程を反映した3ロット以上とする¹⁾。

【試験成績書に記載する試験結果について】

- (1) 実測値は、1ロットにつき3回以上について記載すること¹⁾。
- (2) 結果を数値で示す場合、計算の途中では数字を丸めないか、計算結果に影響を及ぼさない十分な桁まで使用して計算すること。表計算ソフトを使用した際には、計算過程における数値の丸め方の処理などを明らかにするために、表中の計算式を参考資料として要求することがある。

2 性状

性状

規格

〇〇色の液で、△△のにおいがある。

試験結果

本品3ロットについて、各ロット1試料の試験を行った結果 **注1** を示した。

	結果
ロット1	〇〇色の液で、△△のにおいがあった 注2 注3
ロット2	
ロット3	

以上の結果より、本品の性状は「〇〇色の液で、△△のにおいがある」とした。

【注記】

注1 性状(外観及びにおい)については、1ロットにつき1回のデータでもよい²⁾。

注2 原則として、規格と同様の表現とするが、規格の色の表現が、「白色～淡黄色」のように幅記載になっている場合についても、結果は幅記載しないこと。

注3 色調の表現は、規格及び試験方法の性状の項に記載したとおり、原則として、日局要領⁵⁾3. 12.3 によること。

3 確認試験

確認試験

(1)パラアミノフェノール及びオルトアミノフェノール 注1

規格

試料溶液から得たRf値○付近のスポットは、標準溶液(1)から得た○○色のスポットと色調及びRf値が等しい。また、試料溶液から得たRf値△付近のスポットは、標準溶液(2)から得た△△色のスポットと色調及びRf値が等しい。

試験結果

各標準溶液、ブランク 注2 溶液1(パラアミノフェノールを除いた試料から同様に調製した溶液)、ブランク溶液2(オルトアミノフェノールを除いた試料から同様に調製した溶液)及び本品3ロットについて、各ロット3試料の試験を行った結果 注3 を示した。また、標準溶液(1)、標準溶液(2)、試料溶液(ロット1、ロット2及びロット3の各試料1)及びブランク溶液の薄層クロマトグラムの写真 注4 を添付した。

1回目	パラアミノフェノール	オルトアミノフェノール
標準溶液(1)	Rf 値○○の位置に○○色のスポットを認めた 注5	対応する位置にスポットを認めなかった
標準溶液(2)	対応する位置にスポットを認めなかった	Rf 値△△の位置に△△色のスポットを認めた
ブランク溶液 1 (パラアミノフェノール除く)	対応する位置にスポットを認めなかった	Rf 値△△の位置に△△色のスポットを認めた
ブランク溶液 2 (オルトアミノフェノール除く)	Rf 値○○の位置に○○色のスポットを認めた	対応する位置にスポットを認めなかった
ロット 1	Rf 値○○の位置に○○色のスポットを認めた	Rf 値△△の位置に△△色のスポットを認めた
ロット 2		
ロット 3		

2回目	パラアミノフェノール	オルトアミノフェノール
標準溶液(1)		
標準溶液(2)		
ロット 1		
ロット 2		
ロット 3		

3回目	パラアミノフェノール	オルトアミノフェノール
標準溶液(1)		
標準溶液(2)		
ロット1		
ロット2		
ロット3		
標準溶液の Rf 値の 平均 <small>注6</small>	パラアミノフェノール	オルトアミノフェノール
標準溶液(1)	〇〇	—
標準溶液(2)	—	△△

以上の結果より、本品の確認試験を「試料溶液から得たRf値〇付近のスポットは、標準溶液(1)から得た〇〇色のスポットと色調及びRf値が等しい。また、試料溶液から得たRf値△付近のスポットは、標準溶液(2)から得た△△色のスポットと色調及びRf値が等しい。」と設定した。

【注記】

注1 確認する成分名を記載すること。

注2 試験法の特異性を確認するため、必ずブランク試料について試験を行うこと。ブランクは、測定成分を同時に除いたものではなく、測定成分ごとに当該成分のみを除いたものについて試験を行うことが望ましい。ブランク試料の TLC 上の、有効成分のスポットの位置に試験の妨害となるものが無いことを確認する。

注3 3ロットについて、それぞれ3回ずつの試験を独立して実施すること。TLC 試験では、各ロットにつき3回試料溶液の調製を行い、それぞれ、別の薄層板を用いて標準溶液とともにスポットし、新たな展開溶液を使用して試験を行い、試験の再現性を確認すること。ただし、3ロットの各回の試料溶液を1枚の薄層板にスポットし、展開してもよい。必要ならば試料に標準品を添加したのもも同時展開すること。

注4 標準溶液、試料溶液3ロットについて各ロット1試料分及びブランクのカラー写真(デジタル写真のプリントも可)を添付すること。写真が明瞭でない場合は、スケッチを補助的に付けること。TLC 写真では、原点と溶媒上端を明確にし、各スポットを説明すること。原点から溶媒上端まで、特に原点付近、スポットの付近に文字等が重ならないようにする。TLC 写真はできるだけ、縦横の比が大きく変わらないようにするのが望ましい。また、スポット量が多い場合は、複数回に分けてスポットすることができるが、なるべく少ない回数とするのが望ましく、スポットの都度、溶媒を完全に蒸発

させること。

注5 試験結果は、それぞれのスポットについてRf値及び色調について記載すること。規格及び試験方法欄にRf値を規定しない場合においても、本資料にはRf値を記載すること。また、Rf値の桁数は、小数点以下2桁を記載することが望ましい。

注6 結果が数値で表されるものについては、各実測値とその平均値を記載する²⁾。

また、有効成分の含量違いの品目を同時に申請する場合などで、同じ試験法を用いる場合は、それらの試験結果のRf値を比較することで、より多くのデータに基づく、より信頼性の高い規格設定とすることができる。

4 示性値(pH)

示性値(pH)

規格

○.○~○.○

試験結果

本品3ロットについて、各ロット3試料の試験を行った結果 **注1** を示した。

	試料 1	試料 2	試料 3	平均 注3
ロット 1	○.○○ 注2	○.○○	○.○○	○.○○
ロット 2				
ロット 3				
平均				
標準偏差				

以上の結果より、本品の示性値(pH)は3ロットの平均値を中央値とし、ロットによるばらつき及び操作上の誤差を考慮し、±1.0の「○.○~○.○」と設定した **注4**。

【注記】

注1 3ロットについて、それぞれ3回ずつの試験を独立して実施すること。

注2 結果は小数点以下2桁までを記載することが望ましい。

注3 結果が数値で表されるものについては、各実測値とその平均値を記載する²⁾。

注4 特に理由がある場合を除き、pHの規格幅は「2」までとすること⁷⁾。通例、pHの規格は「実測値の平均±1」とする。

5 遊離アルカリ

遊離アルカリ

規格

本品1gあたり○. ○～○. ○mL

試験結果

本品3ロットについて、各ロット3試料の試験を行った結果 注1 を示した。また、滴定曲線 注2 を添付した。

		試料採取量 (g)	滴定値 注3 (mL)	遊離アルカリ (mL/g)	平均 注4 (mL/g)
ロット1	試料1	△. △△△	□. □□	◇. ◇◇	◆. ◆◆
	試料2				
	試料3				
ロット2	試料1				
	試料2				
	試料3				
ロット3	試料1				
	試料2				
	試料3				
平均		/	/	/	
標準偏差		/	/	/	

※0.1mol/L 塩酸のファクター=1.001 注5

計算例 注6 :ロット1の試料1

本品1gあたりの遊離アルカリ量(mL) = $A \times f \times 1 / W$

= □. □□ × 1.001 × 1 / △. △△△

= ◇. ◇◇

A : 試験に要した 0.1mol/L 塩酸の量(mL)

f : 0.1mol/L 塩酸のファクター

W : 試料採取量(g)

以上の結果より、本品の遊離アルカリは、3ロットの平均値を中央値とし、ロットによるばらつき及び操作上の誤差を考慮し、±10%の「本品1gあたり○. ○～○. ○mL」と設定した 注7。

【注記】

- 注1 3ロットについて、それぞれ3回ずつの試験を独立して実施すること。
- 注2 酸塩基滴定(中和滴定、pH 滴定)の終点の検出には、電気的検出法(電位差滴定法)または指示薬法を用いることができるが、いずれの方法でも、滴加量とpH(または電位)についての滴定曲線を作成し、終点の設定やその判定方法、滴定液の設定が妥当であることを確認すること。滴定曲線は、滴定液の滴定量に対するpHをプロットしたグラフであり、縦軸、横軸とも数値軸である散布図として作成する。必要に応じ、滴定量あたりのpHの変化率のグラフも参考にして終点を設定する。指示薬を用いる場合は、pHの変色範囲に注意すること。
- 注3 滴定値(mL)は、ビュレットの最小目盛りの10分の1まで読み取るか、又は、自動滴定装置で結果に影響を及ぼさない十分な桁まで測定し、記載すること。
- 注4 結果が数値で表されるものについては、各実測値とその平均値を記載する²⁾。
- 注5 試験に使用した滴定液のファクターを記載すること。
- 注6 計算例を記載する。
計算の途中では数字を丸めないか、計算結果に影響を及ぼさない十分な桁まで使用して計算すること。
- 注7 規格は、実測値に基づきロット間の誤差、試験誤差を考慮して設定すること。規格幅は、おおむね±10%程度とすること。

6 染毛試験

染毛試験

規格

ほぼ〇〇色に染色される。

試験結果

本品3ロットについて、各ロット3試料の試験結果 注1 を示した。また、写真 注2 を添付した。

		結果
ロット1	1回目	ほぼ〇〇色に染色された 注3
	2回目	
	3回目	
ロット2	1回目	
	2回目	
	3回目	
ロット3	1回目	
	2回目	
	3回目	

以上の結果より、本品の染毛試験は「ほぼ〇〇色に染色される」とした。

【注記】

注1 3ロットについて、それぞれ3回ずつの試験を独立して実施すること。

注2 白布を購入する場合は「単一繊維布 毛 1-1」と指定すること²⁾。

注3 色調の表現は、原則として、申請書の規格及び試験方法に記載された表現と一致すること。

7 陳述及び署名

本資料は、私が実施した試験結果に基づいて作成されたものに相違ありません。注1

〇〇 〇〇 (自筆による署名)

【注記】

注1 正本に添付する試験成績書の記載事項の末尾の余白には、試験実施者の自ら実施した試験に基づいて作成された資料である旨の陳述及び署名を行うこと。陳述文は印刷されたもので差し支えないが、署名は自筆で記載すること。末尾に余白がない場合は、試験成績書に白紙を付け加えることをしないで、他の余白に記載する²⁾。

IV 試験方法の設定のための参考資料

TLC 一斉分析法による有効成分の確認試験に関する検討事例

静岡県での申請に多く使用される有効成分(下記の7成分)に関して、TLC による一斉分析を検討したので参考にさせていただきたい。

【実験方法】

外原規³⁾及び衛生試験法⁶⁾を参考にして試験を実施した。

- (1) 有効成分:市販品または外原規適合品
 - ① パラフェニレンジアミン
 - ② 塩酸トルエン-2,5-ジアミン
 - ③ 硫酸メタフェニレンジアミン
 - ④ パラアミノフェノール
 - ⑤ メタアミノフェノール
 - ⑥ オルトアミノフェノール
 - ⑦ レゾルシン
- (2) ブランク試料:有効成分を除いた第一剤(県内の製造販売業者より提供)
- (3) 薄層板:シリカゲル薄層板(Merck 社シリカゲル 60)
- (4) 展開溶媒:
 - ① イソプロピルエーテル/アセトン/2-プロパノール混液(10:1:1)
 - ② 酢酸エチル/シクロヘキサン混液(4:1)
- (5) スポット量:1 μ L(試料溶液2は、1 μ L または 5 μ L)
- (6) 展開距離:10cm
- (7) 発色試薬:ヨウ素蒸気
- (8) 標準溶液の調製

有効成分それぞれ 10mg に 2-プロパノール/水/アンモニア水(28)混液(9:3:1) 5mL を加えて溶解し、0.1g の亜硫酸水素ナトリウムを加え振り混ぜて放置したのち、それぞれの上清を標準溶液とした(2 μ g/ μ L)。
- (9) 試料溶液の調製

試料1:ブランク試料に各有効成分を終濃度2%(20mg/g)となるように加えたもの
試料2:ブランク試料に有効成分(①, ③, ⑤, ⑦)を終濃度①2%, ③0.1%, ⑤1%, ⑦1%となるように加えたもの
試料1及び試料2約 1g にそれぞれ 2-プロパノール/水/アンモニア水(28)混液

(9:3:1)10mL を加えて溶解し、0.1g の亜硫酸水素ナトリウムを加え振り混ぜて放置したのち、その上清を試料溶液とした。(試料溶液1, 2)

(10) ブランク溶液の調製

ブランク試料約 1g に 2-プロパノール/水/アンモニア水 (28) 混液 (9:3:1) 10mL を加えて溶解し、0.1g の亜硫酸水素ナトリウムを加え振り混ぜて放置したのち、その上清をブランク溶液とした。

(11) 試験操作

展開溶媒①で展開後、風乾したのち、さらに展開溶媒②で展開した。再び薄層板を風乾し、ヨウ素蒸気で呈色させた。

【結果】

展開溶媒①及び②を用いて展開した結果を図1及び図2に、各有効成分の Rf 値を表1に示した。

外原規³⁾及び衛生試験法⁶⁾に記載されている展開溶媒①で展開したところ、有効成分④～⑦の Rf 値は 0.2～0.8 の範囲にあり、特異性及び再現性の点で問題なく、各スポットの分離も良好であった。一方、有効成分①～③の Rf 値は 0.2 未満であり、それぞれのスポットの分離ができなかった(図1)。

一方、展開溶媒②で展開したところ、有効成分①と③の分離は良好であったが、有効成分①と②の分離は不十分であった(図2)。

そこで、多重展開の手法を用い、展開溶媒①で展開後、展開溶媒②で展開したところ、検討した7成分すべてが Rf 値 0.2～0.8 の範囲となり分離も良好であった(図3)。

また、ヨウ素蒸気による発色は成分によって強弱があるが、色調は成分固有で特異性も良好であった。なお、試料溶液2を 1 μL スポットした場合は成分③の検出ができなかった(図3T2)が、スポット量を 5 μL に増やすことで検出が可能となった(図3T3)。

【まとめ:試験方法の設定のヒント】

(1) 試料溶液等の調製について

- ・ 試料溶液の調製は、基本的に衛生試験法に従って行うとよい。必要ならば適宜、抽出溶媒量の変更および前処理を行う。
- ・ 配合量が 0.5% 以下のときは検出できない場合もあるので、試料溶液の濃度が適切となるように注意すること。

(2) 展開溶媒について

- ・ 外原規³⁾及び衛生試験法⁶⁾に記載されている「イソプロピルエーテル/アセトン/2-プロパノール混液 (10:1:1)」は、検討した7成分に関して、成分①～③以外の分離が良く、スポット形状も良好なため第一選択とすべき展開溶媒である(図1)。
- ・ 成分①と③の分離には酢酸エチルとシクロヘキサンの混液を用いるとよい(図

2)。

- ・ 一度展開した薄層板を展開槽から取り出し、乾燥させて再度展開する「多重展開法」を用いると良好な分離が得られる(通常Rf値が 0.5 未満の成分に有効;図3)。検討事例では、異なる成分、組成の展開溶媒を用いて多重展開を行ったが、同一組成の展開溶媒を用いることもできる。

(3) 新たに展開溶媒を検討する際の一般的な手順(類似実験や文献を参考に)

- ① 固定相を決める(多くはシリカゲル)。
- ② なるべく多くの選択性の異なる単一の溶媒で展開する。
- ③ Rf 値が大きい場合は、ヘキサン等で適宜溶出力を下げる。(Rf 値が小さい場合は、酢酸またはアンモニア等を加えて適宜溶出力を上げる。)
- ④ 上記の結果を踏まえて適当な溶媒を2種混合して展開する。
- ⑤ 混合比率を変化させたり、異なる溶媒を一部加えたりして展開溶媒を良好な状態に(Rf 値が目安として0.2~0.8になるように)調整する。スポット形状にも注意すること。

(4) スポット量について

- ・ スポットする有効成分の量は、数 μg ~10 μg が望ましい。
- ・ 原点での広がりを防ぎ、検出感度と分離を向上させるため、なるべく少ないスポット量が望ましい。
- ・ 配合量の少ない成分を検出するときは、スポット量が多くなりやすいので注意すること。

(5) 展開距離について

- ・ 含有する有効成分が多い場合には展開距離を長くすると分離が改善する場合がある。(例:100mm→150mm)

(6) 発色試薬(検出方法)について

- ・ ヨウ素蒸気は、簡便かつ鮮明に成分特有の色調に呈色できる。成分 3, 5, 7 は他の成分と比べて検出しにくいのが、徐々に呈色が強まる。また、界面活性剤も呈色するので注意すること。
- ・ 外原規に記載されている p-ジメチルアミノベンズアルデヒド・希塩酸溶液(1→200)でも検出可能である。特に、成分①パラフェニレンジアミンは強く呈色する。ただし、成分⑦レゾルシンの検出は難しいので注意すること。

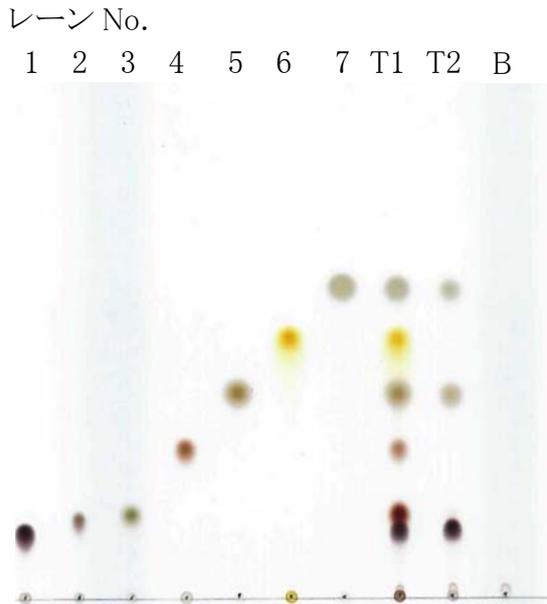


図1 展開溶媒①で展開した結果

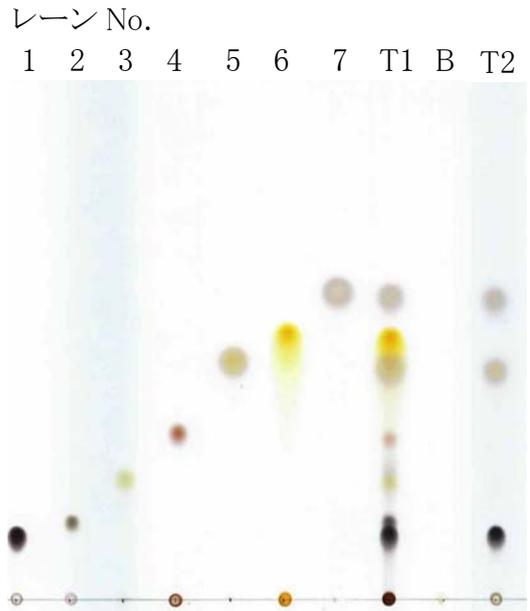


図2 展開溶媒②で展開した結果

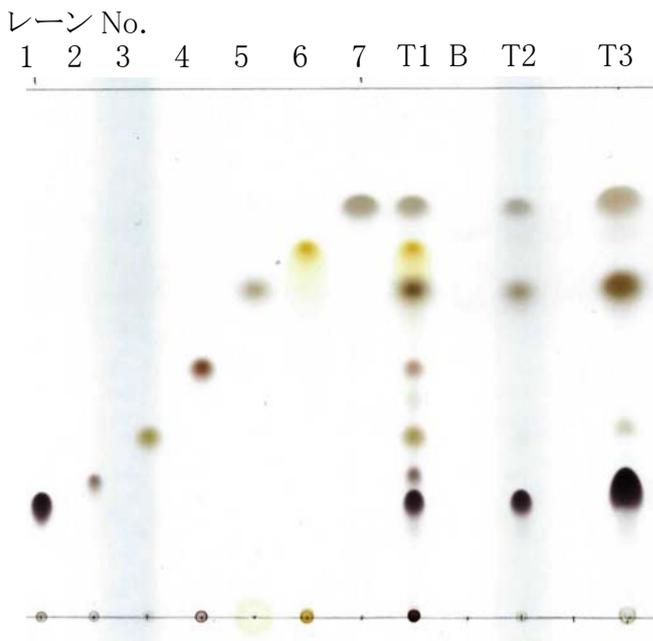


図3 展開溶媒①で展開後、展開溶媒②で展開した結果

レーン No.
1~7: 標準溶液①~⑦
T1: 試料溶液1
T2: 試料溶液2
T3: 試料溶液2 (5 μ L)
B: ブランク溶液
T3 以外はスポット量 1 μ L

表1 各有効成分の Rf 値一覧

成分	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦
図1	0.12	0.15	0.16	0.28	0.39	0.49	0.59
図2	0.12	0.15	0.23	0.32	0.45	0.50	0.58
図3	0.21	0.26	0.34	0.47	0.62	0.70	0.78

V 参考文献

- 1) 染毛剤製造販売承認申請書作成上の留意点等について(平成27年3月25日付け薬食審査発0325第12号 厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知)
- 2) 染毛剤製造販売承認申請要領(改訂第7版)(日本ヘアカラー工業会, 2016)
- 3) 医薬部外品原料規格2006(平成18年3月31日付け薬食発第0330030号)及び一部改正
- 4) 第十七改正日本薬局方
- 5) 第十七改正日本薬局方原案作成要領
- 6) 衛生試験法・注解2010(日本薬学会編, 金原出版, 2010)
- 7) 化粧品・医薬部外品製造販売ガイドブック2011-12(薬事日報社, 2011)
- 8) 医薬部外品の承認基準等の取扱いに関する質疑応答集(Q&A)について(平成28年3月25日付け事務連絡)
- 9) パーマネント・ウェーブ用剤製造販売承認基準について別添「パーマネント・ウェーブ用剤品質規格」(平成27年3月25日付け薬食発0325第35号)
- 10) 平成15年度地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部 第16回理化学研究部会総会・研究会(平成16年2月20日;横浜市)発表演題「医薬部外品承認審査改善のための業者向け資料の作成」(東京都)
- 11) 医薬品等知事承認審査のための「規格及び試験方法」に関するガイドブックー軟カプセル剤ー 静岡県(平成31年3月)
- 12) TLC 一斉分析法による染毛剤の確認試験に関する検討(静岡県環境衛生科学研究所報告 No.53, 49-52, 2010)
- 13) Thin Layer Chromatography メルク TLC マニュアル(メルク株式会社, 2002)