UDC 615.417.2-07 : 612.54

中山 巖, 中村桃吉, 新谷 茂,*¹ 門川清美, 植木 安*²: 各国薬局方の発熱
試験法における判別効率の比較*³

Iwao Nakayama, Momoyoshi Nakamura, Shigeru Shintani, Seibi Kadokawa,
and Yasushi Ueki: Comparison in the Efficiencies of the Tests
for Pyrogens in Various Pharmacopoeias.

(Osaka Plant,*¹ and Head Office,*² Takeda Chemical Industries Ltd.)

Pyrogen test method in four kinds of pharmacopoeiae (Japanese 7th edition, U.S. 16th edition, British 1958 edition, and International 2nd edition) was comparatively examined by the statistical treatment of its efficiency from the standard of assay by the Monte Carlo method. The variance ($\sigma^2=0.0179$), obtained by the administration of glucose injection, was found to be a good measure having sensitive discriminatory power. The British method was especially good but it required the largest number of animals per unit test. The variance ($\sigma^2=0.0835$), obtained by the administration of a pyrogenic substance, showed a fair difference in the efficiency among the four methods and the American method was found to be the most rational, there being less chance of making false judgement of positive result than by the Japanese or International method, although there was no likelihood of over-looking the pyrogenic substance in any of the methods. The British method had a greater chance of missing the pyrogenic substance than the other methods, in spite of the use of a larger number of animals per unit test. It was concluded that, if the American pharmacopoeal method is followed, individual difference of animals tested for the rise of body temperature must be below ca. 0.09 in variance, and there would be an increasing danger of over-looking the contamination of minimum pyrogenic substance of 0.6° by the British method if this variance of the individual difference is over ca. 0.02.

(Received September 18, 1961)

米国薬局方第 12 版 (1942) に発熱試験法が収載されて以来, 多くの薬局方にそれが規定された. 米局ではその後第 15 版 (1955) にその内容が改正され, さらに第 16 版 (1960) になつてわずかに修正が加えられた. 米局第 14 版に準じて収載された第 6 改正日本薬局方 (1952) は第 7 改正 (1961) において少し修正されたが判定基準は変わっていない. 英国薬局方は 1953 年に発熱試験法を収載したがその内容は簡単で, Dare¹⁾ は米局第 14 版とその判別効率を比較して英局がそれに劣っていると報告している. しかしその後追補 (1955) によって改正されて現在の英局 (1958) に至っている. 国際薬局方は第 2 巻 (1955) にはじめて収載された. いずれもうさぎの体温の変化を測定する方法で, はじめは 1 検体につき 3 匹のうさぎを使用し投与前体温と投与後測定した体温のうちの最高体温との差 (これを動揺差または体温上昇度と呼称する) を各うさぎについて求めてそれを判定基準に照合して合否を判別するものであった. 試験条件はそれぞれの条件に見合ったものが規定されているが大きな違いはない. しかし判定基準はそれぞれ結果の解釈に特徴をもたせてあって, 判別効率に大きな差が予想される. 日局, 米局および国際局はいずれも Table I に示すように, 動揺差の 0.6° 以上のものを発熱陽性とみなしてその陽性率によって判定する外に動揺差を正規分布の計量値と考えてその合計値について判別する方法が加味されていて, 陽性率と計量値の判定への重みつけの程度がそれぞれの局方によって幾分異なっている. 英局の判定基準は前述の 3 つの局方と異なり, 3 匹の動揺差の合計値のみによって合否を判別するように規定し, しかも疑しい場合には逐次試験を繰返して 4 回で合否を決定するところの, いわゆる中途打ちりの逐次抜取検査方式が採用されている.

*¹ Juso-nishino-cho, Higashiyodogawa-ku, Osaka.

*² Dosho-machi, Higashi-ku, Osaka.

*³ 本報の一部は Biometric Society 日本支部第 4 回総会に発表 (1956).

1) J.G. Dare: J. Pharm. and Pharmacol. 5, 898(1953).

Table I. The Rule for Decisions of the Test for Pyrogen of Various Pharmacopoeias

No. of test	Decision	J.P. VII			I.P. II			U.S.P. XV			U.S.P. XVI			B.P. 1958	
		<i>n</i>	$\sum C$	$\sum X$	<i>n</i>	$\sum C$	$\sum X$	<i>n</i>	$\sum C$	$\sum X$	<i>n</i>	$\sum C$	$\sum X$	<i>n</i>	$\sum X$
1	A		0	≤ 1.4		0	≤ 1.4		0	≤ 1.4		0	≤ 1.4		≤ 1.15
	D	(3)	1	> 1.4	(3)	1	≤ 2.1	(3)	1	≤ 2.1	(3)	1	> 1.4	(3)	1.16-2.65
	R		2 3			1 2 3	> 2.1		1 2 3	> 2.1		3			> 2.65
2	A		≤ 1			≤ 3	≤ 3.7		≤ 3	≤ 3.7		≤ 3	≤ 3.7		≤ 2.80
	D	(5)	...	...	3	...	...	3	...	...	3	...	...	3	2.81-4.30
	R		≥ 2		(5)	≤ 3 > 4	> 3.7	(5)	≤ 3 > 4	> 3.7	(5)	≤ 3 > 4	> 3.7	(3)	> 4.30
3	A		...	...		...	...		...	...		...	...	6	≤ 4.45
	D		...	...		...	...		...	...		...	...	+	4.46-5.95
	R		...	...		...	...		...	...		...	...	(3)	> 5.95
4	A		...	...		...	...		...	...		...	...	9	≤ 6.60
	R		...	...		...	...		...	...		...	...	(3)	> 6.60

A: Acceptance, D: Doubt, R: Rejection.

n: Numbers of test animal for decision and the numbers in round bracket show the numbers required for test.

C: The temperature rise (*X*) lower than 0.6° is shown as C=0, and higher than 0.6° as C=1.

著者らは上記 4 種類の判定基準により同じような条件で 1000 回の試験をした場合に発熱性物質がないと判定される試験回数の割合を乱数を利用したモンテカルロ法²⁾によって統計学的に求め、各局方間の合否判別効率の差をしらべ種々の考察を加えた。

方 法

正規乱数の作成 試験動物を使わずに乱数によるモデル試験によって合否を判別するために体温上昇の平均値と分散に対応した正規乱数を作成した。体温上昇に関する分散の大きさを、Table II に示すように 20% ブドウ糖注射液を投与して得た分散値 ($\sigma^2=0.0179$) と発熱性物質を投与して得た発熱度の分散値 ($\sigma^2=0.0835$) の 2 つの異なった性質の値を利用し、平均値を 0.2, 0.4, 0.5, 0.61^{*4} および 0.81^{*4} にとり、それぞれの平均値に対する 2 つの分散値における種々の正規母集団を仮定し、級区間 0.1 の級内度数に相当する 000 から 999 の 1000 個のデータ番号と別に求めた矩形乱数に対応させた。矩形乱数は IBM パンチカードシステムでデータを分類する場合に用い種々の統計数値表にある乱数表を利用し、電子計算機 (NEAC-2203) による場合には平方採中法によって発生させた矩形乱数によった。

Table II. Relationship between Mean ($\bar{X}$) and Variance (σ^2) of the Maximum Temperature Rise when injected with the 20% Glucose Solution for Injection and the Pyrogenic Substance

Sample	Dose	No. of Rabbit	Mean (°C)	Variance
20% Glucose solution	10 mL./kg.	67	0.173	0.0179
Filtrate of <i>E. coli</i> incubated	0.05 mL./kg.	90	1.012	0.0835

合否の判別 正規乱数からのデータ番号を対応づけた 3 または 5 個の乱数からなる 1000 組のデータを日局、米局および国際局の判定基準については IBM パンチカードシステムにより、英局については電子計算機 (NEAC-2203) で“合格”, “疑” および “不合格” の 3 種類に分類またはカウントした。第 1 回テストで“疑”の判定を下したもののについてはさらに判定基準に従って分類またはカウントを繰返し、最後に全体の成績

2) H.A. Mayer: “Symposium on Monte Carlo Methods,” 2(1956), John Wiley & Sons, Inc., New York.

*4 Dare¹⁾ の報告例と比べるために特にこの数値を選んだ。

を総合して 1000 回の試験を実施した場合に“合格”と判定した割合を得た。なお米局については第 15 版と第 16 版の両方について実験を試みた。

モンテカルロ法の精度 モンテカルロ法は乱数を利用した疑似サンプリング³⁾によるモデル実験であるから、その結果の正確さは理論値との比較によって評価される。本実験では理論式の成立する日局 VII の結果についてそれをチェックした。その理論式は次のようである。

$$q^3 - P + [(3q^2p + P) \times (q^3 + 5q^4p)]$$

但し $q = \text{value from probit table of } (X+5), \text{ in which } X = \frac{0.55 - u}{\sigma}$

$$p = 1 - q$$

$$P = \left[\int_{0.45}^{0.55} f(X) dX \right]^3$$

この式の q^3 は第 1 回テストで 3 匹共 0.6° 以上を示さない割合であり、 P は 3 匹の動揺差がいずれも 0.5° である割合を示す。第 3 項以下は再テストの結果“合格”となる割合を与える。

英局の実験に用いた電子計算機による結果の精度は約 50% の合格率を示した平均値 0.55° について、二つの分散に対してそれぞれ 6 回の繰返し実験を行ない、その信頼区間を求めて再現性を評価した。

成績および考察

すべての結果を各判定基準について検査特性曲線（以下 OC 曲線と略記）として示すと Fig. 1 のようである。 $\sigma^2 = 0.0179$ の試験条件では総合判定の結果が各薬局方においてほとんど同じで、いずれも判別力の鋭敏な試験法といえる。著者等の試験条件での注射前対照体温と自然動揺値との関係をしらべた結果によると、Table III に示すように 38.7 から 39.6° の間においてその自然動揺の平均値は 0.18° であり、20% ブドウ糖注射液による体温上昇の平均値は Table II に示したように 0.173° で 0.6° 以上を認めていない。本実験では平均値 0.2° でいづれも 100% の合格率であり、 0.6° でいづれも 3~5% であった。 $\sigma^2 = 0.0835$ では各薬局方による判定の結果に差異がみられ、平均値 0.2° において日局および国際局にそれぞれ 7 および 5% の不合格を出したが、米局および英局ではほとんど 100% の合格率であった。しかし英局では 0.6° の平均値において約 30% の合格を示し、誤って発熱陰性と判定する危険性が大きい。また Fig. 2 に示すように平均使用動物数が最も高い。なお $\sigma^2 = 0.0835$ の試験条件で英局の方法を仮りに他の局方と同様に 2 回で打切って 2 回目の“疑”の判定を“不合格”に組入れるとすると、その OC 曲線が Fig. 3 に示すように米局のそれとほとんど変わらなかった。このことは英局でのそれ以上の再テストの続行はいたずらに判定効率を低下することを意味する。しかもこの場合

Table III. Relationship between “Control Temperature” and “Temperature Rise” obtained by the Sham Tests

“Control temp.” ($^\circ\text{C}$)	No. of rabbit	Average temp. rise ($^\circ\text{C}$)
lower than 38.4	8	0.48
38.5~38.6	38	0.32
38.7~39.6	342	0.18
exceed 39.7	5	0.28

Fig. 1.
Operating Characteristic Curves obtained by
the Rule for Decisions of Various
Pharmacopoeias

B.P. 1958 —▽, ▽
U.S.P. XVI —•, ○
J.P. VII —▲, △
U.S.P. XV —◆
I.P. II —■
----- : $\sigma^2 = 0.0179$
—— : $\sigma^2 = 0.0835$

3) 森口繁一監訳：“オペレーションズ・リサーチ：手法と例題” 78(1960) 紀伊国屋書店。

Fig. 2.
Average Numbers of Test Animal used
for Decisions

- ▼: B.P.
- : U.S.P. XVI
- ◆: U.S.P. XV
- ▲: J.P. VII
- : I.P. II

Fig. 3.
Comparison with the Probability of Acceptance
obtained by the Rule for Decisions
of B.P. and U.S.P. XVI in the
same variance ($\sigma^2=0.0835$)

2 回で打ち切りにする方が 6 匹の使用動物数という点で米局や他の局方に比べて経済的であることは注目に値する。他の局方で 0.6° における合格率は約 10% であって、一般に標準とされている水準に適合する。⁴⁾ このことと先の 0.2° での合格率が 100% を示した米局第 16 版は最も合理的な判定基準と考えられる。Fig. 1 の OC 曲線において米局第 15 版と第 16 版のそれがほとんど同じであるにもかかわらず Fig. 2 にみられるように第 16 版の平均使用動物数の方が多いので、第 15 版がむしろ経済的であるといえる。なお Fig. 2 の曲線において、そのピークが日局および国際局で 0.4°, 米局で 0.5°, 英局で 0.6° であることはそれぞれの特に慎重を期する母集団の平均値を示すものとして興味を持たれる。

このようなことは試験動物の体温上昇に関する変動が小さく、著者らの得た自然動揺値の分散 ($\sigma^2=0.0179$) の範囲内であれば問題とならないが、Table II に示したように発熱性物質を含有するような検体を試験する場合のように、体温上昇に関する変動が大きい場合に問題となる。Dare¹⁾ によれば、生理食塩液による分散が 0.009 であるのに対し、細菌性発熱物質の投与による群内分散は 0.1273 と大きい。このような発熱性物質による変動の増大の原因は現在のところ不明であるから、体温上昇に関する変動は大きく目に評価して考察する必要がある。この意味において著者らの採用した $\sigma^2=0.0835$ の結果が重要な意義をもつものと思われる。いずれにしても現在の英局以外の各局方は平均体温上昇値 0.6° を示すような最小発熱量以上の発熱性物質の混入を検出できる程度の判別効率をもつといえるし、英局は例外として他の局方での見逃し率が 10% を示す母集団の平均値が 0.6° であり、分散が 0.0835 であったことは、その分散値がこれらの局方での試験精度の限界であると推定される。実際、Dare¹⁾ の得た分散値 0.1273 では平均体温上昇値 0.61° において米局第 14 版 (日局 VII と同じ) の基準に従うと約 14% の見逃し率となって危険性がかなり高くなる。Smith⁵⁾ によれば英局の判定基準の $\sigma^2=0.1$ において見逃し率 10% を満足する平均値は 0.78° であって、他の局方に比べてかなり高い。英局で他の局方と同程度の判別効率を得るためには、少なくとも 0.02 以下の分散でなければならないと推測され、英局の要求する試

4) 大前, 大西: “抜取検査の実務” 60(1958) 日本規格協会。

5) K.L. Smith: “Quantitative Methods in Pharmacology,” 49(1961) North-Holland Publishing Co., Amsterdam.

験精度が非常に高いことになる。

以上のような結果と考察が精度よく得られたものであることは日局に関して得た OC 曲線が理論値のそれとよく一致し (Fig. 1), また電子計算機による再現精度が ± 1 または 1.4% であったことから明らかである。今後の問題として与えられた判定基準に従って判別効率の向上を計るには、発熱性物質に対する体温上昇の変動を自然動揺の変動の程度にまでより近付けることにあると考えられる。

結 論

1) 日, 米, 英および国際の 4 つの薬局方の発熱試験法における判定基準からみた判別効率をモンテカルロ法によって統計学的に比較検討し種々の知見を得た。

2) 20% ブドウ糖注射液の投与によって得た成績から引用した分散 ($\sigma^2=0.0179$) ではいずれも鋭敏な判別力をもつ試験法であり, 特に英局が判別精度が高かったが, 単位試験当りの使用動物数において最も多くを必要とした。

3) 発熱性物質を投与して得た分散 ($\sigma^2=0.0835$) では米局第 16 版が最も合理的であって誤って発熱陽性と判定する試験の割合が日局および国際局に比べて少なく, 英局は単位試験当りの使用動物数が多いにもかかわらず見逃し率が高いことがわかった。

4) 再テストを必要とした回数からみれば米局第 16 版より第 15 版の方が経済的であった。

5) 若し米局にしたがって試験する場合には, 試験条件の一つの測度である体温上昇に関する変動が約 0.09 の分散値以内でなければならず, 英局にしたがう場合には約 0.02 以上になると見逃し率が増加すると推定された。

本研究に当たり御高配と御鞭撻を賜った 山崎栄一工場長に深甚の謝意を表します。また実験に協力された大阪工場調査課 真鍋末広氏, 本社機械計算部 広政假彦氏ならびに東京大学工学部 景川耕宇, 高瀬啓元および富山大学工学部 岩井久明の諸氏に感謝します。

武田薬品工業株式会社, 同社大阪工場

UDC 582.998:581.19

栗原藤三郎, 高瀬宗章, 飯野なほ子: フキのトウの成分研究 (第 2 報^{*1})

Tozaburo Kurihara, Muneaki Takase, and Naoko Iino: Studies on the *Petasites japonicus* MAKINO.

(Tohoku College of Pharmacy^{*2})

Previously, the bitter component of *Petasites japonicus* was examined and crystals of m.p. 99.5~100° were isolated. In the present series of work, aromatic components were separated from this plant. A neutral essential oil, which seemed to be the main component of its aroma, was separated from the ether extract of this plant and the oil was found to be 1-nonene. The oil also contained angelic, caproic, and caprylic acids as the acidic substances, and butyraldehyde as the neutral substance.

(Received September 19, 1961)

著者等は先にフキ (*Petasites japonicus*) のトウの不揮発性成分として mp 99.5~100° の苦味質を分離し構造を研究中であるが, さらにフキのトウの特異の芳香成分を探究するため, 生草のエーテルエキスを作成した。これを若干濃縮すると黄色固体が析出する。このものはクエルセチン等であるが, これを沝取したエーテルエキスを水蒸気蒸留して, この留分を Chart 1 のように処理すると酸性物質としてアングリカ酸, カブロン酸およびカプリル酸を得る。アングリカ酸の含有量が最も多く留液の 68% を占めている。ついで酸性亜硫酸ソーダに移行する部分からブチルアルデヒドを証明した。残部の中性部分を分留すると bp 145~147° の部分が最も多く中性部の 41% を占めフキのトウの特異の香気の主成分であることが判った。このものは接触還元で水素 1 mol を

*1 第 1 報を東北薬大紀要 4, 149(1957) とする。

*2 Nankozawa, Odawara, Haramachi, Sendai.