

医薬品中のニトロソアミン類 (NDMA 及び NDEA) について

はじめに

ニトロソアミン類とはアミン窒素上の水素がニトロソ基に置換された構造を持つ化合物群のことで、一般に第二級アミンが亜硝酸の存在下、酸性条件で反応して生成されます。図-1 の R^1 と R^2 が $-CH_3$ (メチル基) である N-ニトロソジメチルアミン (NDMA) や R^1 と R^2 が $-CH_2CH_3$ (エチル基) である N-ニトロソジエチルアミン (NDEA) は、国際がん研究機関 (IARC) においてグループ 2A (ヒトでおそらく発がん性を示す) に、また、ICH-M7 (潜在的発がんリスクを低減するための医薬品中 DNA 反応性 (変異原性) 不純物の評価及び管理) に基づくと、クラス 1 (既知の変異原性発がん物質) に分類され、こうした物質については化合物特異的な許容限度値以下で管理を行う必要があります¹⁾。今回、医薬品中に混入したニトロソアミン類の経緯とともに弊財団が採用した分析法について紹介します。

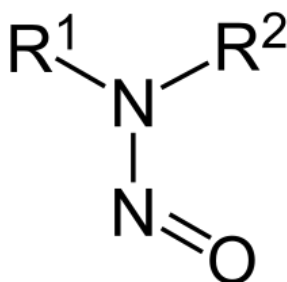


図-1 ニトロソアミン類の一般構造式

医薬品中のニトロソアミン類の規制

発がん性物質であるニトロソアミン類を巡る問題は、平成 30 年 7 月にサルタン系医薬品であるバルサルタンから NDMA が検出されたことに端を発して、その後、ラニチジン等の原薬及びそれを含む製剤、メトホルミンへと波及しました。医薬品へのニトロソアミン類混入の原因としては、合成過程における生成、共用設備からの交叉汚染、回収溶媒や試薬中への混入、一部の包装資材の使用、保存時の生成等が示唆されています²⁾。厚生労働省は「サルタン系医薬品における発がん性物質に関する管理指標の設定について(依頼)」(薬生薬審発 1109 第 6 号、薬生安発 1109 第 4 号、薬生監麻発 1109 第 1 号、平成 30 年 11 月 9 日)¹⁾、「ラニチジン塩酸塩等における発がん性物質に関する分析について(依頼)」(別添, 事務連絡, 令和元年 9 月 17 日)³⁾ 及び「メトホルミン塩酸塩における発がん性物質に関する分析について(依頼)」(別添, 事務連絡, 令和元年 12 月 9 日)⁴⁾をそれぞれ発出し、ニトロソアミン類の混入が疑われる製剤の製造

販売業者に対して、原材料や製造方法によるリスク評価、分析試験の実施、管理値を上回ることが否定できない場合の回収等の必要な対応を指示しています。これに伴い、先発医薬品を含む十数社の製剤の自主回収が行われました。また、令和3年10月8日、厚生労働省は「医薬品におけるニトロソアミン類の混入リスクに関する自主点検について」（薬生薬審発1008第1号、薬生安発1008第1号、薬生監麻発1008第1号）²⁾を発出し、製造販売業者に対してニトロソアミン類の混入リスクに関する自主点検の取扱いを定めました。限度値を超えるニトロソアミン類の混入が確認された品目については、速やかに監視指導・麻薬対策課に報告し、規格値の設定、ニトロソアミン類の量を低減するための製造方法の変更等のリスク低減措置を講じることを求めています。

厚生労働省はNDMA及びNDEAの生成リスクのある原薬においてはICH-M7の考え方を適用し、発がん性データベース (CPDB) 毒性データの動物試験によるTD₅₀ (腫瘍発生率が50%となる用量) から求めた1日あたりの許容摂取量 (NDMA: 0.0959 μg/日, NDEA: 0.0265 μg/日) を基に、限度値管理指標 (表-1) を設定しています^{1), 3), 4)}。なお、管理に当たっての不純物の測定は各限度値以下であることを確認できる検査水準にて行う必要があります。

表-1 NDMA 及び NDEA の原薬中の限度値管理指標

成分名	1日最高用量 (mg)	NDMA 限度値 (ppm)	NDEA 限度値 (ppm)
バルサルタン	160	0.599	0.166
イルベサルタン	200	0.479	0.133
オルメサルタン	40	2.39	0.663
ロサルタン	100	0.959	0.265
ラニチジン	300	0.32	—
ニザチジン	300	0.32	—
メトホルミン	2250*1	0.043	—

*1 メトグルコ錠及びその後発医薬品

分析方法

ニトロソアミン類の分析方法に関しては、規制当局よりいくつかの方法が示されています。バルサルタンのNDMA、NDEAにおいては、米国食品医薬品局 (FDA) よりヘッドスペース (HS) GC-MS 法や直接注入による GC-MS/MS 法もしくは GC-MS 法、多くのニトロソアミン類の同時分析が可能な LC-HRMS 法が示されています⁵⁾。さらに、欧州医薬品庁 (EMA) (OMCL: official medicines control laboratories に掲載) には LC-MS/MS 法、HS-GC-MS 法及び直接注入による GC-MS/MS 法等が収載されています⁶⁾。次に、ラニチジン中のNDMAについて、EMAではOMCLの直接注入のGC-MS法とLC-MS/MS法を掲載しています⁶⁾が、FDAは加熱を伴わないLC-HRMS法を掲載しています。弊財団では、サルタン系医薬品の原薬、ラニチジン及びニザチジンの原薬及びそれを含

む製剤の分析について、厚生労働省から発出された文書^{1),3)}において参考情報として提示された FDA 法(サルタン系医薬品の原薬では HS-GC-MS 法⁷⁾, ラニチジン及びニザチジンの原薬及びそれを含む製剤では LC-HRMS 法⁸⁾)に準拠した分析を実施しております。表-2,3 に準拠元となる FDA 法及び弊財団での分析法(JFRL 法)の概要を示し、図-2 に HS-GC-MS を用いた定量下限相当標準溶液の NDMA 及び NDEA のマスフラグメントグラムを、図-3 に LC-MS を用いた定量下限相当標準溶液の NDMA のマスフラグメントグラムを示します。なお、JFRL 法の定量下限は表-1 の限度値管理指標の水準を満たす設定としております。

表-2-1 サルタン系医薬品の原薬の分析方法

	FDA 法 : GC-MS 法	JFRL 法 : GC-MS 法 ^{*2}
前処理(サンプル採取量, 溶解溶媒種)	500 mg を N-メチル-2-ピロリジノンに溶解	
標準溶液	0.025 μ g ~ 0.5 μ g (検量線範囲)	
機器	機種 : Agilent 7890B GC with Agilent 5977A MSD and Agilent 7697A HS Auto-sampler	機種 : 島津製作所 HS 部 ; HS-20, GC 部 ; GC-2010, MS 部 ; GCMS-QP2020
GC/MS - HS パラメーター		
Column	DB-1701, 30 m \times 0.25 mm, 1.00 μ m	
Inlet Temperature	220 $^{\circ}$ C	設定なし
Column Flow	1 mL/min	
Split Ratio	5:1	
Oven Program	40 $^{\circ}$ C for 0.5 min. ; 20 $^{\circ}$ C/min to 160 $^{\circ}$ C, hold for 0 min; 10 $^{\circ}$ C/min to 240 $^{\circ}$ C, hold for 2 min.	40 $^{\circ}$ C for 0.5 min. ; 20 $^{\circ}$ C/min to 160 $^{\circ}$ C, hold for 0 min; 10 $^{\circ}$ C/min to 240 $^{\circ}$ C, hold for 5 min.
HS Auto-sampler パラメーター		
Oven Temperature	130 $^{\circ}$ C	
Loop Temperature	180 $^{\circ}$ C	
Transfer Line Temperature	185 $^{\circ}$ C	
Vial Equilibration Time	15 min	
Injection Time	1.0 min	
Vial Size	20 mL	

表-2-2 サルタン系医薬品の原薬の分析方法

	FDA 法 : GC-MS 法	JFRL 法 : GC-MS 法*2
MS パラメーター		
MS Source Temperature	230 °C	
Acquisition Type	SIM	
Solvent Delay	3.0 min	
SIM Ion	NDMA m/z 74.0; NDEA m/z 102	

*2 定量下限 : NDMA, NDEA ともに 0.1 ppm

表-3-1 ラニチジン及びニザチジンの原薬及びそれを含む製剤の分析方法

	FDA 法 : LC-HRMS 法	JFRL 法 : LC-MS 法*3
前処理 (サンプル採取量, 溶解溶媒種)	有効成分に換算して一定量採取し, メタノールで抽出後ろ過	
標準溶液	2.0 ng/mL	5 ng/mL
機器	LC 部 : HPLC or UHPLC system equipped with temperature-controlled autosampler and column compartment, MS 部 : Q-Exactive (Thermo-Fisher Scientific)	LC 部 : UltiMate3000 (Thermo-Fisher Scientific), MS 部 : Q-Exactive (Thermo-Fisher Scientific)
Chromatographic Conditions		
HPLC Column	Ace C18-AR, φ 4.6 mm × 50 mm, 3 μm	
Column Temperature	30 °C	
Flow Rate	0.5 mL/min	
Mobile Phase A	水及びギ酸の混液 (1000 : 1)	
Mobile Phase B	アセトニトリル及びギ酸の混液 (1000 : 1)	
Gradient	A 液及び B 液の混液 (95 : 5) 0 min → 1 min A 液及び B 液の混液 (80 : 20) 1 min → 3 min A 液及び B 液の混液 (0 : 100) 3 min → 7 min A 液及び B 液の混液 (0 : 100) 7 min → 9 min A 液及び B 液の混液 (95 : 5) 9 min → 9.1 min A 液及び B 液の混液 (95 : 5) 9.1 min → 14.0 min	
Injection Volume	3 μL	

表-3-2 ラニチジン及びニザチジンの原薬及びそれを含む製剤の分析方法

	FDA 法 : LC-HRMS 法	JFRL 法 : LC-MS 法*3
Mass Spectrometer Conditions/Ion Source Settings		
Spray Voltage	3.5 kV	
Capillary Temperature	400 °C	
Mass Spectrometer Conditions/Scan Settings		
Scan Type	PRM	SIM
Polarity	Positive	
m/z Isolated for PRM	75.0553	SIM で 75.0553

*3 定量下限 : NDMA 0.20 ppm

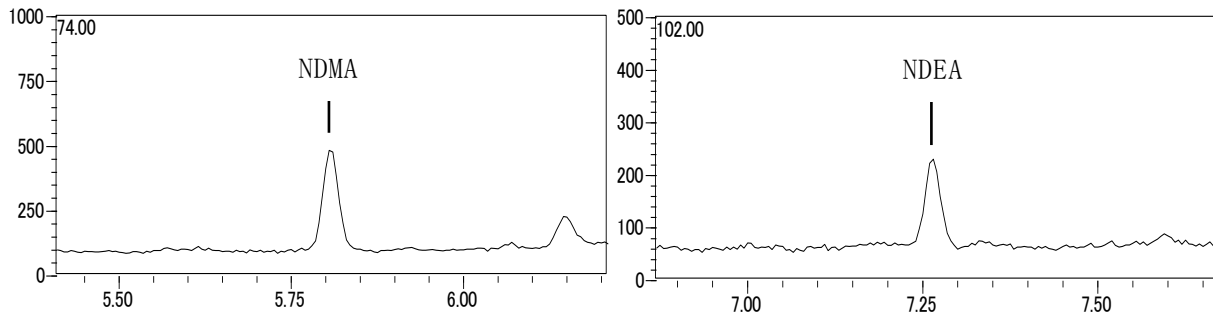


図-2 HS-GC-MS を用いた定量下限相当標準溶液の NDMA 及び NDEA のマスフラグメントグラム

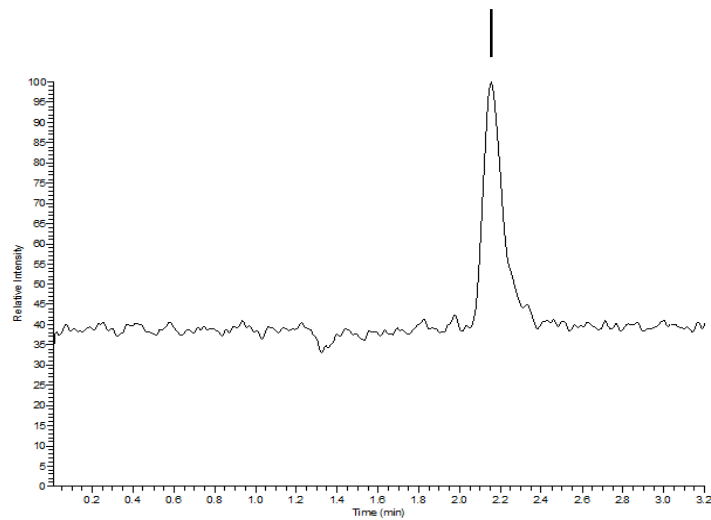


図-3 LC-MS を用いた定量下限相当標準溶液の NDMA のマスフラグメントグラム

おわりに

医薬品に対する安全性、品質管理の要求は高まっており、弊財団では最新の規制情報や分析方法の知見の収集に努めています。

また、サルタン系医薬品の原薬、ラニチジン及びニザチジンの原薬及びそれを含む製剤以外の医薬品についても、表-2, 3 に掲載の JFRL 法により検討試験からの受託を承っておりますのでお気軽にお問い合わせください。

参考文献(参考資料)

- 1) “サルタン系医薬品における発がん性物質に関する管理指標の設定について(依頼)”. 厚生労働省. <https://www.pmda.go.jp/files/000226684.pdf>, (独立行政法人 医薬品医療機器総合機構 HP 参照 2021-10-15) .
- 2) “医薬品におけるニトロソアミン類の混入リスクに関する自主点検について”. 厚生労働省. <https://www.mhlw.go.jp/content/11120000/000841065.pdf>, (参照 2021-10-15) .
- 3) “ラニチジン塩酸塩等における発がん性物質に関する分析について(依頼)”. 厚生労働省. <https://www.pmda.go.jp/files/000231528.pdf>, (独立行政法人 医薬品医療機器総合機構 HP 参照 2021-11-19) .
- 4) “メトホルミン塩酸塩における発がん性物質に関する分析について(依頼)”. 厚生労働省. <https://www.pmda.go.jp/files/000232925.pdf>, (独立行政法人 医薬品医療機器総合機構 HP 参照 2021-10-15) .
- 5) 四方田千佳子. 医薬品の品質問題ーニトロソアミンの検出の事例から. 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス. 2020, 51(9), p. 453-459
- 6) “OMCL ネットワークのアドホックプロジェクト”. Council of Europe. <https://www.edqm.eu/en/ad-hoc-projects-omcl-network>, (参照 2021-10-21) .
- 7) “Combined N-Nitrosodimethylamine (NDMA) and N-Nitrosodiethylamine (NDEA) Impurity Assay by GC/MS-Headspace”. U.S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION. <https://www.fda.gov/media/117843/download>, (参照 2021-10-15) .
- 8) “Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry (LC-HRMS) Method for the Determination of NDMA in Ranitidine Drug Substance and Drug Product”. U.S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION. <https://www.fda.gov/media/130801/download>, (参照 2021-10-15)