

● 医薬品中 DNA 反応性（変異原性）不純物の定量

TN384

Quantification of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals

[概要]

ICH（医薬品規制調和国際会議）ガイドライン 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」が 2015 年 11 月に STEP 5 として厚生労働省より発出され、その補遺(R1)が 2018 年 6 月に出されて、新薬については当該ガイドラインの適用が必要となりました。

一方、2018 年に一部のサルタン系医薬品において、発がん性物質 *N*-ニトロソジメチルアミン（NDMA）や *N*-ニトロソジエチルアミン（NDEA）が検出され、各国で自主回収が行われました。このような状況の中、欧米諸国ではジェネリック医薬品に対しても当該ガイドラインによる評価及び管理が求められ、日本においても同様の動きが広まっています。

DNA 反応性（変異原性）は、DNA に直接損傷を引き起こし、それによって発がん性を有すること（又はその可能性を有すること）を意味します。医薬品における不純物の閾値は、ICH ガイドライン Q3 の規定に基づく管理（原薬 Q3A(R2)：Table1 参照）が求められていますが、医薬品中 DNA 反応性（変異原性）不純物は ICH M7 において、発がんリスクを考慮した許容限度値以下での管理が求められます。

Table1 原薬における不純物の閾値 ICH-Q3A(R2)¹⁾

1 日最大投与量 *1	報告の必要な閾値 *2,3	構造決定の必要な閾値 *3	安全性確認の必要な閾値 *3
≤ 2g/日	0.05%	0.10% 又は 1 日摂取量 1.0 mg (どちらか低い方)	0.15% 又は 1 日摂取量 1.0 mg (どちらか低い方)
> 2g/日	0.03%	0.05%	0.05%

*1 1 日あたりの原薬の摂取量

*2 これより高い閾値を用いる場合は、科学的妥当性を示すこと。

*3 毒性の非常に強い不純物については、これよりも低い閾値が適当な場合もある。

ICH M7 では、Table2 のように不純物を分類し、そのクラスに応じた管理措置を提案しています。また、その許容限度を TTC（毒性学的懸念の閾値）及び LTL 暴露（70 年の寿命より短い暴露）によるリスク管理の観点から Table3 及び Table4 のように提唱しています。

Table2 潜在的な変異原性及びがん性に関する不純物の分類及び管理措置 ICH M7²⁾

クラス	定義	提案される管理措置
1	既知の変異原性発がん物質	化合物特異的許容限度値以下で管理する
2	発がん性が不明の既知の変異原性物質 (細菌を用いる変異原性試験で陽性であり、げっ歯類の発がん性データがない物質)	許容限度値（適切な TTC）以下で管理する
3	警告構造を有し、原薬の構造とは関連しない警告構造であり、変異原性試験のデータが存在しない	許容限度値（適切な TTC）以下で管理する、又は細菌を用いる変異原性試験を実施する 変異原性がない場合はクラス 5 変異原性がある場合はクラス 2
4	警告構造を有するが、試験によって変異原性がないことが示されている原薬又は原薬に関連する化合物（工程中間体など）と同じ警告構造である	非変異原性不純物として扱う
5	警告構造を有しないか、警告構造を有するが変異原性もしくは発がん性のないこと示す十分なデータが存在する	非変異原性不純物として扱う

Table3 個々の不純物における許容摂取量 ICH M7²⁾

投与期間	1 カ月以下	1 カ月超 12 カ月まで	1 年超 10 年まで	10 年超一生涯
1 日摂取量 ($\mu\text{g/day}$)	120	20	10	1.5

Table4 複数の不純物に対する許容 1 日総摂取量 ICH M7²⁾

投与期間	1 カ月以下	1 カ月超 12 カ月まで	1 年超 10 年まで	10 年超一生涯
1 日総摂取量 ($\mu\text{g/day}$)	120	60	30	5

これを実際の医薬品の 1 日最大投与量から換算すると Fig.1 のように微量 (ppm オーダー又はそれ以下) 域の品質管理が必要になると考えられます。

原薬中の DNA 反応性 (変異原性) 不純物の許容限度 (ppm)

$$= \text{許容摂取量 } (\mu\text{g/day}) / \text{1 日最大投与量 } (\text{g/day})$$

例) 1 日最大投与量 100 mg で、DNA 反応性 (変異原性) 不純物の許容摂取量が $1.5 \mu\text{g/day}$ の場合
許容限度 = $1.5 (\mu\text{g/day}) / 0.1 (\text{g/day}) = 15 \text{ ppm}$

Fig.1 DNA 反応性 (変異原性) 化合物における閾値の例

当社では微量分析法の検討を通じて様々なノウハウを蓄積しており、規制の要求に応じた試験法設定が可能です。

以下、0.1 ppm レベルの分析法検討事例として、ヒドラジン及びメタンスルホン酸エステルの分析法検討事例を紹介します。

[事 例 1] ヒドラジンの微量分析法検討例

ヒドラジンは IARC (国際がん研究機構) においてグループ 2B ; ヒトに対して発がん性があると予測される化合物です。ヒドラジンの微量分析法設定を想定した検討例を以下に示します。本検討では、誘導体化 LC/MS/MS (液体クロマトグラフィー/タンデム質量分析法) を選択し分析法バリデーションを実施しました。検討の結果、直線性、真度、精度において良好な結果を示しています。モデル原薬において、0.1 ppm 相当の微量域での評価が可能でした。

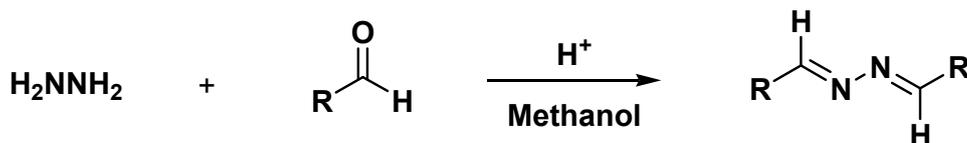


Fig.2 ヒドラジンの誘導体化

Table5 誘導体化 LC/MS/MS 法におけるヒドラジン分析バリデーション結果

項目	内容	結果
直線性	0.0005~0.02 $\mu\text{g/mL}$ における評価	相関係数 $r=0.99$ 以上
真度	モデル原薬に対する 0.1 ppm, 1 ppm, 2 ppm 添加回収率	添加回収率 70~130%
注入再現性	0.05 ppm, 0.1 ppm 同一溶液 6 回注入再現性	相対標準偏差 5%未満

【事例2】メタンスルホン酸エステルの微量分析法検討例

メタンスルホン酸エチルエステル (IARC グループ 2B) を測定対象に選択し、同様に微量分析法検討を行った事例を以下に示します。本検討では、誘導体化 HS-GC/MS (ヘッドスペースーガスクロマトグラフィー質量分析法) による分析法バリデーションを実施致しました。検討の結果、こちらも直線性、真度、精度において良好な結果を示し、モデル原薬において 0.1 ppm 相当の微量域での評価が可能となっています。



Fig.3 メタンスルホン酸エチルエステルの誘導体化

Table6 誘導体化 HS-GC/MS 法におけるメタンスルホン酸エチルエステル分析バリデーション結果

項目	内容	結果
直線性	0.005~0.08 $\mu\text{g/mL}$ における評価	相関係数 $r=0.99$ 以上
真度	モデル原薬に対する 0.1 ppm, 1 ppm, 2 ppm 添加回収率	添加回収率 70~130%
注入再現性	0.1 ppm 同一溶液 6 回注入再現性	相対標準偏差 5%未満

この他、当社では、種々の DNA 反応性 (変異原性) 不純物の分析法検討実績を基に、より精度の高い分析法設定を目指した検討のご提案を致します。

また、定量に先立って実施すべき、検出された不明不純物の構造推定や構造解析、ICH Q3A 及び Q3B に基づく構造解析も実施可能です。合わせてご利用ください。

引用文献

- 1) International Conference on Harmonisation, Q3A (R2): "Impurities in New Drug Substances", (2006).
- 2) 厚生労働省: 薬生審査発 1110 第 3 号, "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ガイドラインについて", available from <https://www.pmda.go.jp/files/000208287.pdf>, (accessed 2020-12-03).

【キーワード】

mutagenicity、genotoxicity、carcinogenicity、がん原性、遺伝毒性