



医薬品中の遺伝毒性不純物 レギュレーションと分析手法

入門書

The Measure of Confidence



Agilent Technologies

目次

用語集.....	4
序文.....	5
1. はじめに.....	7
医薬品中の不純物.....	7
本書の内容.....	7
リソース.....	8
2. 規則とガイドライン.....	10
不純物に関する ICH のアプローチ – ガイドラインと分類.....	10
PhRMA ポジションペーパー.....	11
EMA ガイドライン.....	13
FDA ガイダンス草案.....	16
ICH M7 の展望.....	17
ICH S2 (R1) に準拠した遺伝毒性試験.....	17
ラボの規制遵守要件.....	18
3. 履行に関する推奨事項.....	20
4. 遺伝毒性不純物の分析.....	23
分析上の困難.....	23
高性能液体クロマトグラフィ (HPLC).....	24
液体クロマトグラフィ – 質量分析 (LC-MS).....	25
ガスクロマトグラフィ (GC) および GC-MS.....	26
誘導結合プラズマ発光分光分析 (ICP-OES) および誘導結合プラズマ質量分析 (ICP-MS).....	27
核磁気共鳴 (NMR) 分光分析.....	28
参考文献.....	29

用語集

ADI	1 日許容摂取量
ALARP	合理的に実施可能な限り低く
CFR	(米国) 連邦規則集
CHMP	(欧州) ヒト医薬品委員会
CPMP	(欧州) 専売医薬品委員会
EMA、EMEA	欧州医薬品庁、旧 EMEA
EP	欧州薬局方
EU	欧州連合
EWG	(ICH) 専門家作業部会
FDA	米国食品医薬品局
ICH	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
JP	日本薬局方
NOEL	無影響量
PDE	1 日許容曝露量
PGI	遺伝毒性が疑われる不純物
PhRMA	米国研究製薬工業協会
SAR	構造活性相関
SWP	安全性作業部会
TTC	毒性学的閾値
USP	米国薬局方

序文

この教育ガイドの目的は、品質評価および作業部署の管理者やスタッフを対象に、遺伝毒性物質に関する規制要件の概要と、その履行に関する推奨事項を説明することにあります。また、関連する分析機器の概要を説明し、そうした機器の動作を実証する貴重な科学文献も紹介しています。

米国食品医薬品局 (FDA) や、同様の国際的な医療関連当局は、医薬品に含まれる有害不純物を管理し、規定値以下にまで除去することを求めています。遺伝毒性物質は分析の難しいタイプの不純物で、低濃度でも有害な影響を及ぼすことがわかっています。そのため、規制当局は、製剤原料や医薬品に含まれる遺伝毒性物質の上限値を定めています。しかし、完全な規則ガイドラインが欠如していたうえ、規則が長い時間をかけて複数の組織により策定されたために、一部には一貫性のない要件も見られます。主要不純物に関する対応の初期段階では、業界の専門家により、ポジションペーパー (公式見解書) も策定されました。詳細な規則ガイドラインが存在していなかったことから、ポジションペーパーがガイドラインの代わりに用いられてきました。そうした文書に含まれているコンセプトは、のちに規則ガイドラインに採用され、現在でもベストプラクティスとして使用されています。こうした経緯から、遺伝毒性不純物に関する正確かつ最新の規則ガイドラインを手に入れるのが困難になっています。そのため、本書のように概要をまとめた文書が必要とされています。

規定値での遺伝毒性不純物の分析には、分析機器およびメソッドという点で、大きな要件が伴います。そのため、世界中の科学者が、さまざまなサンプルマトリックスに含まれるさまざまな遺伝毒性不純物について、分析手順を開発しています。こうした多くの実験の結果が各種の専門誌で発表されています。本書でもその概要をまとめています。

本書のコンセプトとアイディアは、個人的な経験にもとづくもので、組織の公式なポリシーを反映するものではありません。本書で提供する情報は、著者の知識と理解の及ぶ範囲内において、印刷時点で正確なものです。本書ではすべての読者に対し、規制当局の公式ウェブサイトやその他の信頼性の高いソースで、最新情報を確認することを推奨しています。

一般に、規則やガイドラインは長期間にわたって大幅に変更されることはありませんが、解釈や査察、履行手順などは、頻繁に変更されるため、定期的に確認する必要があります。たとえば、欧州医薬品庁 (EMA) は、遺伝毒性不純物に関するよくある質問の答えを公開しています。日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (ICH) は、「Assessment and Control of DNA (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk (発がんリスクを抑制するための医薬品中 DNA (変異原性) 不純物の評価と管理)」と題されたガイドラインを策定するために、専門家作業部会を設置しています。この ICH 文書では、未解決の問題が明確化される予定です。また、EMA および FDA が現在提供しているガイドラインに代わって採用される可能性があります。

以下のウェブサイトでは、一般的な規則や遺伝毒性不純物に関する規則の情報が定期的に更新されています。

生物医薬品業界のための規則とガイドライン

<http://www.fda.gov>

欧州医薬品庁

<http://www.ema.europa.eu/>

日米 EU 医薬品規制調和国際会議

<http://www.ich.org>

遺伝毒性不純物に関する規制当局および業界慣行の参考情報および最新情報

<http://www.labcompliance.com/info/links/impurities/genotoxins>

著者

Dr. Ludwig Huber

グローバル FDA コンプライアンス主席アドバイザー、Labcompliance

ludwig_huber@labcompliance.com

Dr. Ravikrishna Chebolu

医薬品部門マネージャ、アジレント・テクノロジー

ravikrishna_chebolu@agilent.com

医薬品中の不純物

医薬品における不純物とは、治療上の効果がなく、悪影響を引き起こすおそれのある物質と定義されます。そのため、ヒトに投与する場合の医薬品の安全性が十分に保たれるように、不純物濃度を管理する必要があります。

不純物は、医薬品の安全性や開発時間、販売やマーケティングに影響を与えます。たとえば、複数の実験により不純物を分析し、許容値まで除去する必要があると、医薬品開発の所要時間が大幅に長くなることがあります。遺伝毒性物質に汚染されているために、医薬品を市場から回収する必要性が生じ、マーケティングに影響が出るケースもあります。

ICH ガイドラインによれば、製剤原料に関連する不純物は、おもに有機不純物、無機 (元素) 不純物、残留溶媒の 3 カテゴリーに分類されます。これらのカテゴリーのうち、低濃度でも大きな安全上のリスクとなる遺伝毒性不純物は、特別のグループを形成しています。遺伝毒性物質は変異原性をもち、DNA の損傷を引き起こすおそれがあります。そのため、突然変異やがんの原因となる可能性があります。

遺伝毒性物質および遺伝毒性の定義については、多くの議論が交わされています。本書では、ICH S2 (R1) ガイドライン¹ の定義を参考にしています。このガイドラインでは、遺伝毒性は「変化の生じるメカニズムにかかわらず、遺伝物質になんらかの悪影響を与えることを指す広義語」と定義されています。また、遺伝毒性不純物については、「微生物遺伝子変異 (Ames) 試験などの妥当な遺伝毒性試験モデルにより、遺伝毒性があると証明されている不純物」と定義されています。遺伝毒性が疑われる PGI (Potential Genotoxic Impurity) については、「構造的に遺伝毒性を疑う必要があるが、実験的な試験モデルで試験されていない不純物。疑われる、とは遺伝毒性に関するもので、当該不純物の有無が疑われるという意味ではない」²⁰と定義されています。

本書の内容

本書の第 1 章では、内容の概要のほか、民間の著者により発表された規則要件や分析試験に関する文献も紹介します。第 2 章では、不純物に関する規則の概要を説明し、遺伝毒性不純物に関係する具体的なガイドラインを紹介します。また、開発および製造品質管理において、遺伝毒性不純物などの規制対象となるサンプルの分析をおこなうラボに対して規制当局が求める事項についても説明します。第 3 章では、EMA および FDA ガイドラインの履行に関する推奨事項について触れます。第 4 章では、遺伝毒性不純物の分析に用いられるテクニックをまとめています。

リソース

本書の目的は、遺伝毒性不純物の規則と分析に関する概要を説明することですが、このテーマに関する詳細を読むことのできるリソースは、その他にも数多く存在しています。これらのリソースは、規制当局や業界/当局の合同タスクフォース、民間の著者により提供されているものです。規則やその他の公式文書については、次章で説明します。民間の著者の論文は、雑誌、オンライン、参考書などで発表されており、標準的な経路をつうじて入手できます。ここからは、一般的な雑誌や参考書で、民間の著者または組織により発表された重要なリソースを紹介します。これらの文献は、以下の3つのカテゴリーに分けられます。

- 遺伝毒性不純物の規則および管理的側面
- 分析試験ラボにおける規制遵守
- 遺伝毒性不純物の分析機器および手順

規則および管理的側面

Kirkland と Snodin² は、遺伝毒性不純物に関する初期の規則策定について報告し、欧州専売医薬品委員会 (CPMP) の安全性作業部会 (SWP) が 2002 年に発表した「Position Paper On the Limits of Genotoxic Impurities (遺伝毒性不純物の限度値に関するポジションペーパー)」の内容を説明しています。

おそらく、遺伝毒性不純物に関するもっとも重要な論文は、Müller ほか³ が 2006 年に発表した論文でしょう。この論文は、米国研究製薬工業協会 (PhRMA) の専門家グループが作成したもので、遺伝毒性が疑われる不純物の測定、試験、管理に関して、複数の革新的なアプローチが解説されています。詳細については、本書の第 2 章で説明しています。

Robinson⁴ は、規則ガイドラインに準拠した複数の管理戦略を提案し、各アプローチを説明しています。

- 製剤原料合成の見直しにより、問題のある不純物の混入を回避する。
- 関連するプロセスパラメータの変更により、そうした不純物を問題のない濃度にまで除去または低減する。
- プロセスに関する理解を徹底し、特定の遺伝毒性不純物が生成されないこと、または効率的に除去されることを証明する。
- 安全性・毒性研究を実施し、想定される低濃度において、特定の不純物が有害でないことを実証する。

Snodin と Elder⁵ は、遺伝毒性不純物の全般的な概要を説明しています。もっとも有益な情報は、ICH M7 の最新情報です。これは、医薬品中の DNA 反応性不純物に関するガイドラインで、現在、ICH 専門家作業部会により策定が進められています。詳細については、本書の第 2 章で説明しています。

遺伝毒性不純物の分析

さまざまな機器を用いた分析メソッドについて、複数のレビュー記事や参考文献が発表されています。もっとも重要な文献を以下に挙げています。

Liu のグループ⁶ は、医薬品遺伝毒性不純物の微量分析における最近の進歩を報告しています。この論文では、化学開発過程で一般に生じる、さまざまな構造の遺伝毒性不純物の分析について、業界の見解が提示されています。

Elder、Snodin、Teasdale⁷ は、医薬品有効成分 (API) および医薬品に含まれるヒドラジン、ヒドラジド、ヒドラゾン遺伝毒性不純物の分析について説明しています。特に注目すべきは、クロマトグラフィと質量分析を含む幅広いテクニックが用いられ、ほとんどの例に誘導体が関係している点です。そうした幅広い選択肢により、各自の要件にもっとも適したテクニックを選ぶことが可能になっています。

Elder のグループ⁸ は、API 中の遺伝毒性が疑われる不純物のうち、ハロゲン化ベンジルなどの反応性の高い有機ハロゲン化物の分析について報告しています。この論文は、各テクニックによりサブカテゴリーに分けられています。登場するテクニックには、ガスクロマトグラフィや高性能液体クロマトグラフィなどが含まれ、質量分析計をはじめとする各種の検出器が用いられています。薄層クロマトグラフィやキャピラリー電気泳動についても触れられています。

アジレントは、医薬品不純物の分析ソリューションについて、30 ページの入門書を公開しています⁹。遺伝毒性不純物の分析などのアプリケーション例を紹介する章もあります。

分析試験ラボにおける規制遵守

FDA や同等の国際当局の規制環境下で分析をおこなう分析試験ラボは、分析機器の適格性確認や分析メソッドのバリデーションなど、公式な規則要件を遵守する必要があります。このセクションでは、もっとも重要性の高い 2 つの参考資料を挙げ、このテーマに関するいくつかのブックレットを紹介します。

- 分析機器の適格性確認に関する標準的な参考資料は、USP チャプター <1058>¹⁰ です。
- ICH Q2 (R1)¹¹ は、分析手順のバリデーションに関する国際標準です。

アジレントは、規則要件と履行の推奨事項について、複数の入門書を公開しています。

- 「Compliance for (Bio)pharmaceutical Laboratories ((生物) 医薬品ラボのコンプライアンス)¹²」では、サンプリングからレポート作成、データのアーカイブ化までのすべての手順を扱っています。
- 「Analytical Instrument Qualification and System Validation (分析機器の適格性確認とシステムのバリデーション)¹³」では、適格性確認の計画からレポート作成までの実例とともに、このプロセスに必要な手順を説明しています。
- 「Validation of Analytical Methods (分析メソッドのバリデーション)¹⁴」では、ICH ガイドライン Q2 (R1) に準拠した要件、手順、履行の推奨事項を紹介しています。

不純物に関する ICH のアプローチ – ガイドラインと分類

製剤原料および医薬品中の不純物とは、治療上の効果がなく、毒性が疑われる物質を指します。医薬品中の不純物の混入源としては、以下のものが挙げられます。

- 開始物質とその汚染物質
- 試薬と触媒
- 溶媒
- 中間体
- 賦形剤とその汚染物質
- 漏出物
- 分解生成物

患者を保護するためには、医薬品中の不純物の濃度を安全上の許容限度以下に抑える必要があります。特定の限度値による医薬品中の不純物量の管理に関しては、複数の規制ガイドラインとポジションペーパーが存在しています。

不純物ガイドラインはおもに、日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (ICH) により策定されています。たとえば、ICH Q3A¹⁵ では、新規製剤原料中の不純物が規定され、不純物の報告、同定、定量に関する閾値が定められています。ICH Q3B¹⁶ では、新薬中の不純物について、同様の内容が定められています。

ICH Q3C¹⁷ は残留溶媒を管理するためのもので、ICH ガイドラインとしてはじめて、各物質に固有の限度値が適用されています。健康上の潜在的なリスクに応じて、残留溶媒が 3 つのクラスに分類されています。クラス I 溶媒は回避すべき溶媒、クラス II 溶媒は 1 日許容曝露値が定められている溶媒です。クラス III 溶媒については、1 日の曝露量が 50 mg 以下の場合には、健康上の曝露限度値が定められていません。

ICH Q3D は現在策定中で、重金属不純物の元素やその限度値も盛り込まれる予定です。現時点では、最終医薬品中の存在量および 1 日許容曝露量について、各元素に固有の限度値を決定することが提案されています。

現在公開されている不純物限度に関する ICH ガイドラインは、ほとんどの遺伝毒性不純物には適さないものです。遺伝毒性不純物に固有の問題の 1 つとして挙げられるのが、製剤原料の合成にはしばしば反応性の高い物質の使用が求められることです。そうした物質は、ヒト DNA と反応し、きわめて濃度が低い場合でも、変異やがんを引き起こすおそれがあります。そのため、遺伝毒性不純物の存在を回避する必要があります。それが不可能な場合には、規定の閾値以下に抑える必要があります。業界や規制当局のさまざまな組織が、遺伝毒性不純物に特化したガイドラインを策定しています。関連するガイドラインについては、本章の次のセクションで説明します。冒頭の表 1 で、もっとも重要な関連ガイドラインの概要をまとめています。

表 1. 遺伝毒性不純物のガイドライン：管理、試験、リスク評価

おもなテーマ	タイトル
遺伝毒性不純物の管理に関するガイドライン	PhRMA ポジションペーパー：遺伝毒性が疑われる医薬品中不純物の測定、分析、管理に関する論拠 (2006) ³ 。5 クラスの不純物分類、短期曝露に関する段階的な不純物閾値などの重要なコンセプトを導入。
	EMA：遺伝毒性不純物の限度値に関するガイドライン ¹⁹ 。2002 年および 2004 年に協議用の草稿を公開、2006 年に最終版を公開。関連する Q & A 文書 ²⁰ と併せると、もっとも包括的な規則文書といえます。また、毒性学的閾値 (TTC) のコンセプトと値にも触れられています。
	EMA、安全性作業部会 (SWP)：毒性不純物の限度値に関するガイドライン ²⁰ の質問と回答。2008、2009、2010、2012 年に公開。
	業界向け FDA ガイダンス (草案)：製剤原料および医薬品中の遺伝毒性不純物と発がん性不純物：推奨されるアプローチ (2008) ²² 。全体として、EMA ガイドラインと足並みをそろえています。
	ICH M7：発がんリスクを抑制するための医薬品中 DNA (変異原性) 不純物の評価と管理、ビジネス計画 (2010)、ポジションペーパー ¹⁸ 。この文書は現在策定中で、既存の EMA および FDA ガイドラインに代わって採用される可能性があります。
遺伝毒性分析に関するガイドライン	ICH S2：ヒト用医薬品の遺伝毒性分析およびデータ解釈 ¹ 。以前のガイドライン ICH S2A (1996) と ICH S2B (2007) を統合したもので、遺伝毒性分析に関する国際的な文書です。
	EMA：植物性原料/製剤の遺伝毒性評価に関するガイドライン (2008) ²¹ 。遺伝毒性が疑われる植物性原料/製剤の分析に関する一般的なフレームワークと実用的なアプローチ、および分析結果の解析方法について説明しています。
遺伝毒性物質および発がん性物質のリスク評価	欧州委員会健康および消費者保護委員会：遺伝毒性物質および発がん性物質に関する一般的なリスク評価手法およびアプローチ (2009) ²³ 。

PhRMA ポジションペーパー

毒性不純物の限度値が製薬業界で認知されたことに加え、公式なガイドラインが欠如していたこと、および遺伝毒性物質に関する FDA の査察および規則執行が開始されたことにより、製薬業界の協調的な対応が後押しされました。2004 年には、PhRMA が遺伝毒性不純物に関するタスクフォースを立ち上げ、その成果が Regulatory Toxicology and Pharmacology 誌において、「A Rationale for Determining, Testing and Controlling Specific Impurities in Pharmaceuticals that Possess Potential for Genotoxicity (遺伝毒性が疑われる医薬品中不純物の測定、分析、管理に関する論拠)」(2006) と題されたポジションペーパーとして発表されました。³

このポジションペーパーの策定と並行して、関連する公式ガイドラインを策定する EMA プロジェクトが進められました。そのため、アプローチに重複する部分があります。たとえば、PhRMA の文書では、EMA 草案から毒性学的閾値 (TTC) のコンセプトが採用され、EMA ガイドラインの最終版では、PhRMA タスクフォースの段階的な TTC アプローチに関する推奨事項が採用されています。どちらのコンセプトについても、本書で詳しく説明します。両文書の大きな違いの 1 つが、履行に関する重点の度合いです。EMA の公式規制ガイドラインでは、PhRMA のペーパーよりも履行に関する詳細が少なくなっています。全体として、この 2 つの文書は、アプローチや重点という点で互いを補い合っています。

PhRMA ペーパーでは、革新的な 2 つの重要コンセプトが導入されています。

1. 遺伝毒性不純物を分類するための 5 クラスシステム

クラス 1

遺伝毒性 (変異原性) および発がん性があることが知られている不純物。このグループには、遺伝毒性メカニズムに関して信頼性の高いデータが存在する動物発がん性物質、およびヒト発がん性物質が含まれます。不純物の遺伝毒性は、化学構造に関する公表データを用いて実証されています。

クラス 2

遺伝毒性 (変異原性) があることは知られているが、発がん性が確認されていない不純物。このグループには、従来の遺伝毒性試験による不純物分析をもとに、変異原性が実証されている不純物が含まれます。

クラス 3

API の構造とは無関係のアラート構造をもち、かつ遺伝毒性 (変異原性) が確認されていない不純物。このグループには、構造上、遺伝毒性と結びつく可能性がある官能基をもつ不純物が含まれます。ただし、それらの官能基は、分離された化合物として分析されておらず、構造活性相関 (SAR) に関する知識ベースの専門家システムにより、化学上特定されているものです。

クラス 4

API に関係するアラート構造をもつ不純物、および API の構造と共通のアラート官能基をもつ不純物。

クラス 5

アラート構造や遺伝毒性のおそれが見られない不純物。

この分類システムをもとに、不純物評価のための戦略が提案されました。この戦略はこれまでに、遺伝毒性不純物に関するほとんどの業界内のリスク評価において、基本的な規範となっています。ポジションペーパーでは、5 クラスモデルに従った ICH の不純物分析を導入する際の推奨事項が提示されています。表 2 に示すように、この戦略は 3 つの手順で導入することができます。

表 2.5 クラス不純物モデルの導入

手順	行動	備考
1	親化合物および予想される不純物においてアラート構造を特定し、不純物を 5 クラスのいずれかに分類する。	この行動には、合成経路の科学的検証により、プロセスで生じる化合物、試薬、中間体などの問題となりうる化合物を同定することが求められます。
2	分類をもとに、不純物の定性戦略を策定する。ここでは、各不純物の遺伝毒性を定義し、医薬品中の不純物の許容限度を設定します。	発がん性に関する情報は、エームス試験などの遺伝毒性試験で得られた実験データに裏づけられた文献を参考にします。参考文献には、各クラスの定性に関する詳細情報が記載されています。
3	1 日許容摂取量 (ADI) および TTC コンセプト (以下を参照) をもとに、不純物の限度値を設定する。	薬剤原料および医薬品中の許容量は、定性およびリスク評価をもとに決定します。

2. 臨床試験材料に関する段階的 TTC のコンセプト

段階的 TTC とは、投与量と臨床試験期間の両方を考慮し、閾値を調整することを指します。そのため、投与量が多い場合は TTC は低く、期間が短い場合は TTC は高くなります。このコンセプトの背景となっているのは、臨床試験では投与期間が限られていて、総曝露量が比較的低いということです。元々の TTC で用いられている従来のリスク評価では、もっとも発がん性のおそれが高い場合を除いて、すべてのケースで安全域が大きくなります。段階的 TTC の値は、すべての開発段階に適用されるべきものです。また、複数の遺伝毒性不純物が存在する場合は、各化合物に適用されます。このコンセプトの適用外となるのは、発がん性がきわめて強い物質です。

どちらのコンセプトも、新薬開発過程において業界に柔軟性を与え、リスク緩和戦略を可能にする目的で導入されました。段階的 TTC アプローチは、遺伝毒性不純物に関する EMA および FDA ガイドラインの重要な要素でもあります。^{19, 20, 22}

EMA ガイドライン

EMA は、遺伝毒性不純物への対応に関する詳細なガイドラインを定めた、先駆的な規制機関です。草案策定の任務は、専売医薬品委員会 (CPMP) の安全性作業部会 (SWP) が担当しました。CPMP は現在、ヒト医薬品委員会 (CMPH) と呼ばれています。SWP 委員会では、遺伝毒性のおそれがある不純物は、Q3A および Q3B ガイドラインの範囲から外れる特別なケースだと指摘されました。そのため、不純物管理に関する ICH ガイドラインのギャップを埋めることが目的とされました。特に、遺伝毒性が疑われる不純物など、著しく影響の大きい不純物に重点が置かれました。委員会では、Q3C で残留溶媒に関して用いられているアプローチと同様に、ICH 限度値にリスクベースの安全係数を加味することが提案されました。「Position Paper on the Limits of Genotoxic Impurities (遺伝毒性不純物の限度値に関するポジションペーパー)」と題された文書は、2002 年に協議用の最初の草案が公開され、2004 年に完全版が公開されました。この文書の公開後、欧州医薬品庁の略号は、EMEA から EMA に変更されました。一貫性をもたせるために、本書では現在の略号を使用しています。

2006 年 6 月、EMA の CHMP は、「Guideline on the Limits of Genotoxic Impurities (遺伝毒性不純物の限度値に関するガイドライン)」の最終版を発表しました。CHMP の安全性作業部会は、さらなる明確化を目的に、複数の質問回答文書を公開し、ガイドラインを大幅に拡充しました。²⁰ この文書は、新規製剤原料に含まれる遺伝毒性不純物に適用されます。また、既存の活性成分に関する新アプリケーションにも適用されます。ここでいう新アプリケーションとは、同じ活性成分を含む認可済みの医薬品と比べて、遺伝毒性不純物が新たに導入されていないこと、または高濃度で導入されていないことを、合成経路、プロセス管理、不純物プロフィールの評価では論理的に保証できない場合を指します。現状においては、ある化合物が遺伝毒性物質に分類されるのは、in vitro または in vivo の遺伝毒性試験により陽性所見が得られている場合です。試験の際には、DNA に直接的な損傷を与えるおそれのある DNA 反応性物質に重点が置かれます。単独の in vitro 所見については、妥当な追跡試験において、in vivo との関連性について評価されることがあります。

このガイドラインでは、遺伝毒性不純物に関して、「閾値に関連するメカニズムについて、十分な(実験的)証拠が得られている」ものと、「閾値に関連するメカニズムについて、十分な(実験的)証拠が得られていない」ものを区別することが推奨されています。また、化学反応、分子構造、原材料における不純物の種類と量、既存の遺伝毒性データなどの知識をもとに、遺伝毒性があると合理的に予想される不純物に限定して、関連する実験をおこなうことが推奨されています。

閾値に関連するメカニズムについて十分な証拠がある遺伝毒性不純物については、クラス 2 溶媒に関する ICH Q3C (R3) で定められているメソッドを用いて対応することになります。このアプローチでは「1 日許容曝露量」を計算します。この許容量は、関連性の高い動物実験により得られた「無影響量」または「最小影響量」を用いて、各種の不確定要素を加味して導出します。

医薬品評価および管理戦略

遺伝毒性が疑われる不純物のうち、閾値に関連するメカニズムについて十分な証拠が得られていないものについては、「合理的に実施可能な限り低い」(ALARP) 濃度に抑えるというコンセプトが採用されています。ALARP アプローチでは、製剤原料合成時に、そうした不純物の生成を防止するためのあらゆる対策をとらなければならないと定められており、それが不可能な場合には、合成後に不純物を減らす技術的取り組みをしなければならないとされています。医薬品評価に従って、ALARP 原則に合致すると見なされた濃度については、毒性学的観点から妥当性を評価する必要があります。

医薬品評価および管理戦略を実施する目的は、ALARP 原則に従って、不純物濃度を抑制することにあります。まず重視すべきは、製剤原料中に遺伝毒性不純物が存在しないようにすることです。EMA は医薬品開発の当事者に対して、製剤原料合成および医薬品製造の際には、遺伝毒性物質および発がん性物質の生成を避けるために、あらゆる可能な措置をとることを求めています。

利用可能な製剤オプションおよび技術をもとに、提案する製剤/製造戦略に関して、論理的な根拠を提示する必要があります。新薬を申請する際には、活性成分の化学プロセスおよび不純物プロフィール内で、試薬として用いた化学物質や、中間体または副生成物として存在する化学物質のうち、遺伝毒性または発がん性が知られている物質をすべて明示する必要があります。一般的には、反応性物質や、遺伝毒性的見地からアラート構造や、活性成分と共通しない構造をもつ物質を考慮する必要があります。可能であれば、最終製品に遺伝毒性物質が残留しないような代替手段をとることが求められます。

実行可能な代替手段が見つからない場合は、合成や製剤の代替経路、および異なる開始物質などについて、妥当性を示す根拠を提示する必要があります。しかし、多くの場合、問題となる不純物の生成を完全に避けるのは不可能であることは、規制当局も認識しています。

遺伝毒性不純物の生成を避けられない場合は、製剤原料および医薬品中の不純物量を、安全性要件に準拠した値、または合理的に実施可能な限り低い値にまで減らすための措置をとらなければなりません。こうした措置の例としては、精製手順などがあります。

毒性学およびリスク評価

EMA ガイドラインでは、遺伝毒性不純物の生成を避けられず、かつ不純物を完全に除去できない場合については、リスク評価の実施が推奨されています。リスク評価とはすなわち、人体への健康上のリスクが無視できる濃度、またはそれ以下の1日曝露量を推定することを指します。このアプローチについては、できれば長期的な発がん性研究から得られた妥当なデータを利用することが望ましいとされています。たいていの場合、遺伝毒性不純物の毒性学評価では、限られた *in vitro* 研究データ (エームス試験、染色体異常試験など) しか利用できないため、許容摂取量を決定するための既存のアプローチは適用できません。

in vitro データ (エームス試験など) から安全性の値を算出するだけでは、許容限度の妥当性を証明するには不十分だと考えられています。さらに、低 ppm 域の不純物を含む製剤原料を用いた発がん性および遺伝毒性試験における陰性データでは、試験アプローチの感度が不足しているため、許容限度の設定に関する十分な根拠にはなりません。製剤原料の一部として、きわめて低い曝露量で分析した場合には、変異原性や発がん性が疑われる物質でも、検出されない可能性があります。

したがって、リスクが許容範囲内に収まるきわめて低い濃度で遺伝毒性不純物を検出できる、実的なアプローチが必要です。EMA ガイドラインでは、遺伝毒性不純物に関して、毒性学的閾値 (TTC) を用いることが提案されています。このアプローチは、PhRMA タスクフォースによりすでに報告されているものです。³ TTC とは、発がん性などの毒性に関して重大なリスクの生じない化合物曝露閾値を指します。きわめて毒性の高い一部の化合物を除いて、1日あたりの摂取量で 1.5 µg という TTC が妥当であることがわかっています。この閾値は、累積生涯発がんリスクの 10^{-5} に相当します。EMA はこのリスクレベルについて、医薬品に伴う効果を考えると妥当なものとなししています。EMA ガイドラインでは、遺伝毒性プロフィールに関する重要性評価をもとに、場合によっては1日あたり 1.5 µg を上回る TTC 値も許容できると指摘されています。そうした値が許容される状況については、予想される曝露が短期間の場合や、余命が5年以下のケースで生死にかかわる症状を治療する場合とされています。Q & A 文書²⁰ には、臨床試験における各種曝露期間に対応する推奨 TTC 値が記載された表が含まれています。曝露期間が 6~12 か月、3~6 か月、1~3 か月、1 か月未満の1日許容摂取量は、それぞれ 5、10、20、60 µg/日です。

毒性の高い一部の構造グループについては、摂取量が TTC 値を下回る場合でも、深刻な発がん性リスクを伴うことがわかっています。こうした遺伝毒性の高い発がん性物質としては、アフラトキシン類似化合物、ニトロソ化合物、アゾキシ化合物などがあり、これらについては TTC アプローチの適用外とする必要があります。そうしたグループの化合物のリスク評価には、化合物固有の毒性データが求められます。このタイプの遺伝毒性物質のリスク評価アプローチについては、欧州委員会健康および消費者保護委員会の発表した論文「General Risk Assessment Methodologies and Approaches for Genotoxic, and Carcinogenic Substances (遺伝毒性物質および発がん性物質に関する一般的なリスク評価手法およびアプローチ)」²³ で詳述されており、本書ではこれ以上は触れません。

植物性製剤の遺伝毒性評価に関する EMA ガイドライン

2008 年、EMA は「The Assessment of Genotoxicity of Herbal Substances/Preparations (植物性原料/製剤の遺伝毒性評価に関するガイドライン)」²¹ を公開しました。このガイドラインは、遺伝毒性が疑われる植物性原料/製剤の分析に関する一般的なフレームワークと実用的なアプローチ、および分析結果の解析方法について説明するものです。このガイドラインには、一部の具体的な製剤の危険性やリスク評価に関する実例が含まれています。例としては、*Angelica archangelica* (セイヨウトウキ) 含有製剤におけるフロクマリンに伴う遺伝毒性リスクや、アサロン、メチルオイゲノール、サフロールを含む植物性製剤のリスクなどが挙げられます。

このガイドラインでは、初期段階におけるエームス試験などの単一の試験だけでは、すべての遺伝毒性エンドポイントをカバーできず、したがって、染色体損傷などに関連する重大な遺伝毒性が検証されない可能性がある」と指摘されています。しかし、*in vitro* 微生物復帰突然変異試験を用いれば、重要なエンドポイント、すなわち DNA 反応性植物性材料の大部分をカバーできる可能性があります。このガイドラインで述べられている段階的なアプローチは、植物性医薬品 (HMP) に関する現行の規制フレームワーク内で、遺伝毒性分析の科学的側面とそうした医薬品に固有のニーズの両方に対応できる実際的な手法です。

FDA ガイダンス草案

2008 年 12 月、米国 FDA は、「Genotoxic and Carcinogenic Impurities in Drug Substances and Products - Recommended Approaches (製剤原料および医薬品中の遺伝毒性不純物と発がん性不純物—推奨されるアプローチ)」²² と題された業界向けガイダンスの草案を発表しました。それ以降、ガイダンスの最終版は発表されておらず、今後公開される ICH M7 ガイドラインに置き換えられる可能性があります。FDA ガイダンスでは、遺伝毒性および発がん性が知られている、または疑われる不純物の安全性確認に関して、具体的な推奨事項が提示されています。また、遺伝毒性不純物や発がん性不純物への患者の曝露による発がんリスクを特定し、低減するためのさまざまな方法が述べられています。このアプローチは EMA ガイドラインと同様のもので、表 3 に示すように、3 つのステップで構成されています。

表 3. 特性評価およびリスク低減のための FDA ガイダンス

手順	行動
1	合成および精製経路を変更し、関連不純物の生成を最小限に抑える、または当該不純物を最大限に除去する。
2	一般的な目標として、関連不純物の 1 日あたりの最大曝露量を 1.5 µg とする。
3	遺伝毒性および発がん性リスクに関するさらなる特性評価により、より高い値または低い値のいずれかを検証し、不純物規定値の妥当性を裏づける。

FDA ガイダンスでは、EMA ガイドラインと同じまたは類似のアプローチがも採用されています。しかし、大きな違いもあります。表 4 で、おもな類似点と相違点を比較しています。

表 4. FDA および EMA ガイダンスの比較

類似点	相違点
遺伝毒性が疑われる不純物の同定および定性に関して、同じアプローチが推奨されている。遺伝毒性不純物および発がん性不純物への対応に関して、同じアプローチが推奨されている。	FDA ガイダンスには、発がん性不純物が含まれている。
TTC が 1.5 µg/日に設定されている。	FDA ガイダンスでは、単回投与についてだけでなく、14 日未満の場合については、120 µg という TTC 値が認められている。
臨床試験中の短期曝露については、高い TTC が設定されている。	FDA ガイダンスでは、市販品については短期曝露でも高い TTC が認められていない。

ICH M7 の展望

ICH は現在、ガイドライン M7「Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities (DNA (変異原性) 不純物の評価と管理)」を策定しています。予備情報と導入のスケジュールは、ビジネス計画とコンセプトペーパーに記載されています。¹⁸ この ICH ガイドラインは、EMA および FDA ガイドラインで現在扱われている幅広い分野がカバーされています。また、FDA および EMA ガイドラインの間にある矛盾を解消するものと期待されています。また、同様の作用機序をもつ、構造的に関連する複数の遺伝毒性不純物の扱い方や、TTC を算出する際にそうした不純物を含めるかどうかなど、業界で論じられている他の問題点も明確化される見込みです。

第 1 回の ICH 専門家作業部会 (EWG) 会議は、2010 年 11 月に福岡で開催されました。2010 年 11 月の ICH Sステップ 1 作業草案に関する Snodi と Elder の報告書によれば⁵、一般的な原則、特にアラート構造、エームス試験、TTC コンセプトの適用、リスク評価といった点については、既存の EMA ガイダンスと同様になるとされています。

ICH S2 (R1) に準拠した遺伝毒性試験

医薬品の遺伝毒性試験に関する世界的なガイドラインは、「Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use (ヒト用医薬品の遺伝毒性分析およびデータ解釈)」と題された ICH ガイドライン S2 (R1)¹ です。このガイドラインは、S2A「Specific Aspects for Regulatory Genotoxicity Tests for Pharmaceuticals (規則に従った医薬品の遺伝毒性試験に関する各側面)」および S2B「Genotoxicity: A Standard Battery for Genotoxicity Testing of Pharmaceuticals (遺伝毒性：医薬品遺伝毒性試験に関する標準装置)」としてすでに公開されている 2 つのガイドラインをまとめたものです。このガイドラインの対象範囲は、新規の小分子製剤原料の試験のみで、生物製剤には適用されません。

ガイドラインは 5 つのパートに分かれています。

- パート I では、ガイドラインの適用範囲が説明され、遺伝毒性試験の定義と一般原則が記載されています。遺伝毒性試験は、各種機構により遺伝的損傷を引き起こす化合物を検出するための in vitro および in vivo 試験と定義されています。これらの試験は、DNA 損傷および損傷の固着に関する危険性を特定することができます。一般に、遺伝性の影響および悪性腫瘍の多段階プロセスにおいてきわめて重要な役割を果たしているのは、遺伝子変異という形での DNA 損傷の固着、大規模な染色体損傷、または遺伝子組み換えであると考えられており、遺伝子が増殖する複雑なプロセスについては、ごく小さな役割を果たすにとどまっているものとみられます。

- パート II では、製剤原料試験の標準装置が説明され、微生物の遺伝子変異試験や、in vivo および in vitro 試験について触れられています。
- パート III～V では、in vitro 試験、in vivo 試験、およびこれらの試験結果の評価に関する具体的な推奨事項が説明されています。これらのパートでは、フォローアップ試験戦略についても説明されています。

ラボの規制遵守要件

安全で効果のある医薬品に限って販売を認可し、製品として出荷するためには、医薬品を研究するラボで正確かつ信頼性の高いデータを測定することが重要となります。そのため、医薬品の開発および QC に携わるラボは、FDA や同様の国際規則を遵守し、データ品質の高さを証明する必要があります。このセクションでは、医薬品ラボの規制遵守要件の概要を説明します。詳細については、参考文献 12 に記載されています。この章で挙げる要件は、原則的に、開発および製造の全段階に適用されますが、前臨床研究から最終医薬品 QC までの段階に関しては、漸増的に要件が適用されます。たとえば、臨床フェーズ I では、意図される用途における分析メソッドの適合性を説明する文書を作成するだけで十分ですが、フェーズ III では、説明がつけねに実験により裏づけられている必要があります。この章で挙げたすべての要件は、GMP 環境で満たすべきものですが、初期の段階ではかならずしもそうではありません。

ラボの要件は、2 つのカテゴリーに分けられます。

- **全般的な品質システム要件**
規制の対象となる組織内の活動すべてに適用されます。
文書管理、内部査察、人員の適格性確認など。
一般には、品質システム要件と呼ばれます。
- **ラボに固有の要件**
分析メソッドのバリデーション、サンプリング、分析レポートの
検証と承認など、ラボの特定の状況に適用されます。

規制遵守の概要

医薬品ラボにおける規則の全体的な影響は、図 1 に示すように、サンプル/データワークフロー全体を見るとよくわかります。図の上段は、規制対象のラボに適用される全般的な品質保証要件を示しています。図の下段は、サンプルおよび試験データに関する一般的なラボのワークフローと主要な要件を示しています。図の中段は、サンプルおよびデータワークフロー全体に適用される要件を示しています。

医薬品ラボの規制遵守

互いに矛盾しない組織構造、文書管理、苦情処理、是正措置および予防措置、サプライヤおよび下請け業者の管理、内部査察、人員の適格性確認。

すべてのワークフロー手順に共通する規制遵守

分析メソッドおよび 手順のバリデーション	機器校正試験および メンテナンス	環境条件の管理
-------------------------	---------------------	---------

サンプルおよびデータワークフローの規制遵守

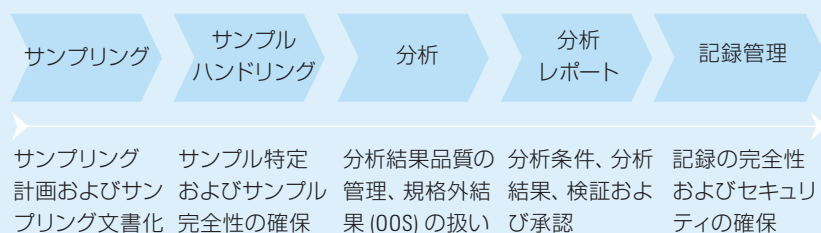


図 1. 医薬品ラボの要件

遺伝毒性不純物分析における考慮事項

- 遺伝毒性不純物分析の特性および関連するガイドラインの要件を考えると、医薬品ラボには、サンプルの扱いや前処理について特に注意を払うことが求められます。これは、遺伝毒性物質が一般に、反応性の高い化合物であるためです。
- 分析メソッドおよび手順のバリデーションに関する国際基準は、ICH Q2 (R1) です。¹¹ このガイドラインでは、分析パラメータや許容基準に関する推奨事項が提示されています。遺伝毒性不純物分析に用いるメソッドのバリデーションをおこなう際には、特定の要件や状況に特に注意を払う必要があります。たとえば、EMA および FDA ガイドラインで定義されている要件に準じて、許容値を調整する必要があります。これらの許容値は、現行の ICH ガイドラインよりも引き下げられています。また、試験の選択性にも特に注意を払うことが推奨されます。不純物が少量の場合、多量に存在する API に隠されてしまう可能性があります。

この章では、前章で述べた EMA、FDA、PhRMA タスクフォースの要件を履行するうえでの推奨事項を提示しています。履行の目的は、製剤原料や販売されている医薬品に含まれる遺伝毒性不純物を管理することにあります。

本書では、以下で述べるように、A～D までの 4 つの段階を設定しています。各段階は、複数の主要手順で構成されています。

A. 遺伝毒性の閾値関連メカニズムに関する十分な証拠を用いて、遺伝毒性不純物を特定および追跡する

これを実行するためには、まず合成経路を検証し、遺伝毒性データまたはアラート構造をもとに、遺伝毒性の疑われる不純物を特定する必要があります。リスク評価の最終判断ポイントには、TTC (毒性学的閾値) を用います。図 2 に、遺伝毒性が疑われる不純物の評価および扱いに関する推奨手順を示しています。

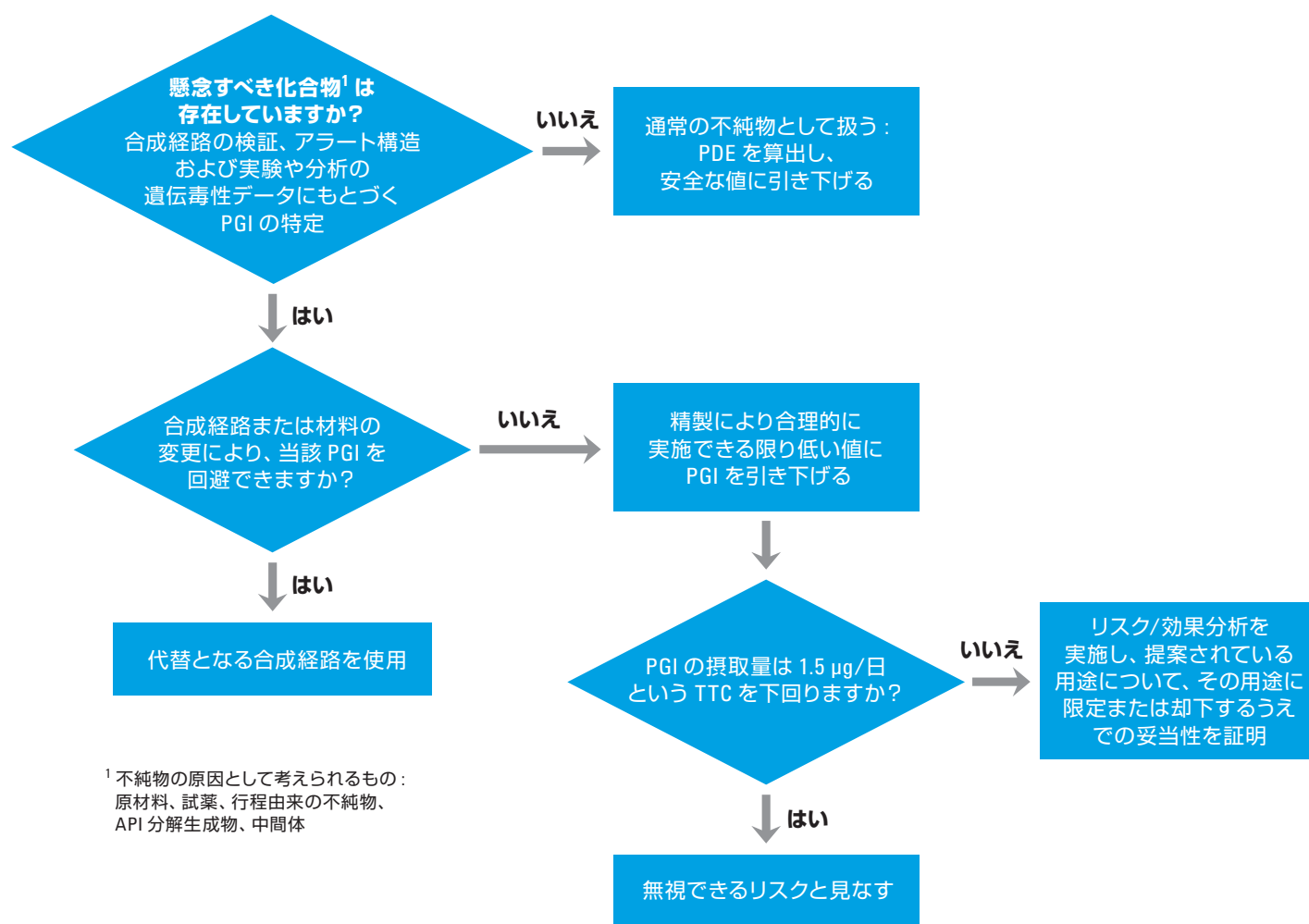


図 2. 遺伝毒性不純物の許容性評価のためのフローチャート (参考文献 19 および 22 より)

B. 臨床試験における短期曝露について、1 日許容摂取量を決定する

FDA と EMA はいずれも、調査段階においては、規定の TTC に柔軟性を与えています。これは、臨床試験の継続期間が、短期の単回投与から複数年の複数回投与まで多岐にわたるためです。販売申請の安全性確認閾値は、生涯リスク評価をもとに決定されます。1 日許容摂取量の決定に関する推奨手順は、以下のとおりです。

1. EMA²⁰ および FDA²² ガイドラインの関連する表を参照する。
2. 表 5 に示すように、複数の曝露期間について、不純物閾値のリストを作成する。

表 5. 各種曝露期間の不純物閾値

曝露期間	14 日未満	14 日～ 1 か月	1～3 か月	3～6 か月	6～12 か月	12 か月を 超える場合
不純物閾値	120 µg/日	60 µg/日	20 µg/日	10 µg/日	5 µg/日	1.5 µg/日

注意：EMA については、120 µg/日という許容摂取量は、単回投与にのみ適用されます。

C. 公式に推奨されるものよりも高いまたは低い閾値を用いる場合の手順を作成する

EMA と FDA はいずれも、特定の状況における TTC については、柔軟なアプローチを採用しています。たとえば、患者における治療上の効果が認められる場合などの一部のケースでは、許容値は推奨される閾値よりも高くなります。一方、毒性の高い発がん性物質が存在する場合などのケースでは、規定よりも低い閾値を採用する必要があります。柔軟なアプローチを用いる場合の推奨手順は、以下のとおりです。

1. 柔軟なアプローチを適用するための具体的な手順を策定する。
2. 柔軟なアプローチを用いる場合の例などにより、明確な基準を定める。
3. 推奨される閾値よりも高い値を用いる場合は、リスク評価によりその妥当性を証明する。

D. (オプション) ステージ A で特定した不純物を分類し、各クラスについて安全性確認戦略を策定する

この手順は、PhRMA タスクフォースにより推奨されています。³ 文献のデータまたは遺伝毒性試験および構造分析により得られたデータを用いて、変異原性に関連する官能基を特定し、不純物を 5 クラスのいずれかに分類します。推奨手順は以下のとおりです。

1. 表 6 にある 5 クラスのいずれかに遺伝毒性不純物を分類する。
2. 文献評価の結果、遺伝毒性試験、アラート構造などにより、分類の妥当性を証明する。
3. 表 6 の分類をもとに、不純物の安全性確認戦略を策定する。
4. 実験の詳細、安全性確認の結果と結論を文書化する。

表 6. 不純物のクラス分類

クラス	特性	安全性確認戦略
1	毒性 (変異原性) および発がん性が知られている不純物	不純物を除去する。不可能な場合には、段階的 TTC コンセプトをもとに、ADI 値を用いて基準を設定する。
2	遺伝毒性 (変異原性) があることは知られているが、発がん性が確認されていない不純物	閾値メカニズムが確立されている場合には、PDE アプローチを導入する。閾値メカニズムが確立されていない場合には、TTC をもとに 1 日許容摂取量を決定する。
3	API の構造とは無関係のアラート構造をもち、かつ遺伝毒性 (変異原性) が確認されていない不純物	TTC をもとに、1 日許容摂取量の候補値を導出する。DNA 直接反応性について不純物を分析し、クラス 2 または 5 に分類する。
4	API に関係するアラート構造をもつ不純物	API の遺伝毒性を分析し、陰性であれば、通常の不純物として扱う。
5	アラート構造がない、または遺伝毒性がないという十分な証拠のある不純物	通常の不純物に適用されるガイドラインを用いて基準を決定する。

分析上の困難

遺伝毒性不純物は、0.01～0.03 % よりも大幅に低い濃度で管理することが求められるため、分析には大きな困難が伴うことがあります。できれば、1～5 ppm (0.0001～0.0005 % w/w) の範囲の検出下限を備えた分析手順が理想です。そうした低濃度で検出するためには、感度の高い分析機器が求められます。また、賦形剤由来の他の有機不純物が低濃度で多数存在する可能性があるため、選択性も重要となります。不純物に比べて量が多いAPIも、低濃度の不純物の分析に干渉することがあります。

また、遺伝毒性不純物はさまざまな官能基をもち、その由来もさまざまであるため、すべての遺伝毒性不純物を単一の手順で分析するのは困難です。さらに、遺伝毒性不純物は反応性が高いため、サンプリングが困難で、分析対象物の完全性を保つためには、特別な措置をとる必要があります。分析対象となる不純物は、抽出やサンプル前処理、分析の途中で反応しやすいため、不正確な低い値が出たり、分析結果がばらついたりすることがあります。また、一部の遺伝毒性不純物は、揮発性の高い低分子化合物であるため、サンプル前処理手順やサンプリングプロセスの際に揮発してしまう可能性があります。

医薬品開発ライフサイクルの初期段階で、適切な分析テクニックおよび手順を検証する必要があります。分析する遺伝毒性不純物の性質や量に応じて、適切な分析テクニック (または複数のテクニックの組み合わせ) を選択する必要があります (図 3)。開発の初期段階でメソッドを評価しておけば、毒物学研究および臨床研究が効率化されます。また、メソッドの性能、堅牢性、合理的な許容基準に関する経験を積むうえでも役立ちます。こうした要素は、新薬登録や製造管理の際に、メソッドバリデーションの証拠文書として重要になります。

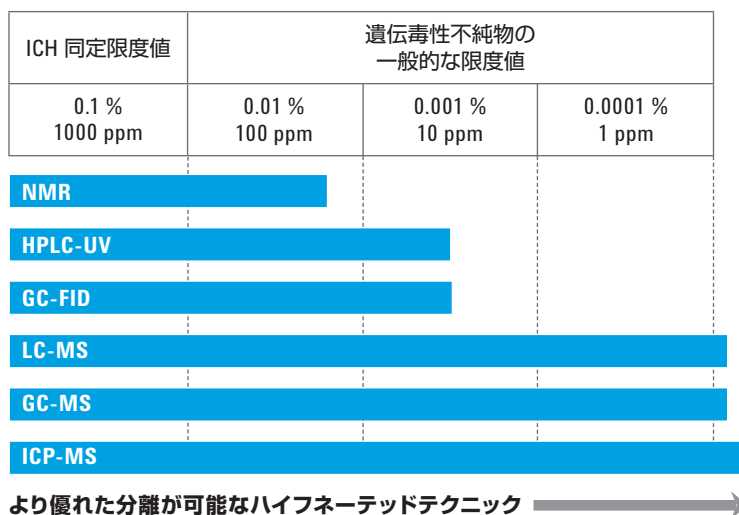


図 3. 遺伝毒性不純物の検出下限が低いほど、定量のためにはより高度な分析テクニックが必要となります。²⁹

歴史的に、遺伝毒性不純物の分析にもっともよく使われているテクニックは、HPLC (UV/Vis 検出器と組み合わせ) および GC (FID 検出器と組み合わせ) です。最近では、感度と選択性が高いことから、検出器として質量分析計が用いられることが多くなっています。

この章では、遺伝毒性不純物の分析に用いられる各種テクニックの概要を説明していきます。各タイプの分析テクニックについて、関連する実験例やデータが記載された参考文献を紹介しています。また、参考文献 5~9 は、包括的な検証に役立ちます。参考文献 25 には、分析する物質の特性をもとに、適切なクロマトグラフィメソッドを選択するのに役立つフローチャートが記載されています。

高性能液体クロマトグラフィ (HPLC)

HPLC は、機器の使いやすさとコスト効率の良さから、不揮発性の遺伝毒性不純物の分析に用いられています。また、分析実施者になじみのある機器や手法であるという点も、広く用いられている理由のひとつです。粒子サイズの小さいカラムを用いた超高性能 HPLC では、分析時間を大幅に短縮することができます。

Agilent 1200 Infinity シリーズ LC システムは、遺伝毒性の疑われる不純物 (PGI) の包括的な分析に求められるスピード、分離能、柔軟性、感度を備えています。パワーレンジが広いいため、あらゆる粒子タイプ、カラム寸法、移動相/固定相に対応できます。また、革新的なコンポーネントにより、UHPLC、RRLC、HPLC アプリケーションで次世代レベルの性能を実現します。⁹

革新的な Agilent Max-Light カートリッジセルを使えば、PGI の超高感度検出を最適化することができます。60 mm の光路長を備えた Agilent Max-Light なら、さらに優れた検出下限と感度が実現します。⁴⁰

1200 Infinity シリーズハイダイナミックレンジ DAD ソリューションでは、30 倍の直線 UV 範囲により、検出機能が広がり、1 回の分析ですべてのサンプル成分を定量することが可能です。医薬品活性成分中に存在する低濃度の遺伝毒性不純物の測定に最適です。³³

マルチメソッドソリューションとメソッド開発ソリューションは、作業の繰り返しを低減するという点で役立ちます。アジレントの自動カラムおよび移動相スクリーニングシステムと、Method Scouting Wizard ソ



Agilent 1200 Infinity シリーズ LC システム

フトウェアを使えば、最低限のクリック操作で最大 8 カラムおよび 26 溶媒を選択し、1000 種類以上のバイナリ、ターナリ、クォータナリグラジエントのテスト条件をスクリーニングすることができます。^{34,35}

1290 Infinity 2D-LC ソリューションは、きわめて複雑な PGI 分離に最適なツールです。ピークトリガー操作、シフトグラジエント、革新的なバルブ技術などのパワフルな新機能により、標準的な 1 次元 LC に比べて、分離能が大幅に向上します。^{30, 32}

アジレントの幅広い LC カラムファミリーは分離分析に最適で、薬局方メソッドの導入を加速化することができます。また、継続的なメソッド開発にも適しています。最高のスクラビリティが得られるため、ラボの複数の開発設定に対応できます。また、全世界で展開するサービスやサポートもご利用いただけます。

120 MPa でも安定性が保たれる ZORBAX Rapid Resolution High Definition (RRHD) カラムは、14 の相が用意されているため、UHPLC メソッド開発で優れた柔軟性が得られます。9 つの相で展開する 2.7 μm の Poroshell 120 ファミリーは、従来の 40 MPa 機器の圧力範囲で高効率高速 LC 性能を実現します。



Agilent ZORBAX および Poroshell カラム

液体クロマトグラフィー 質量分析 (LC-MS)

遺伝毒性不純物分析における画期的な出来事は、各種の質量分析 (MS) 検出器が応用されたことです。数百 ppm という検出下限を容易に達成できることに加え、MS ベースのメソッドは通常、選択性と感度が高いため、UV のみなどのテクニックよりも高い堅牢性と耐久性が得られます。

シングル四重極質量分析計は、既知不純物の確認や、未知不純物の予備構造分析に適しています。高感度 Q-TOF 質量分析計は、分離能と質量精度が高く、微量の未知不純物の明確な同定が可能です。そのため、遺伝毒性不純物の分析にはきわめて有効です。^{9,36} トリプル四重極 (QQQ) LC/MS/MS システムは、医薬品分析ラボにおいて、有機不純物の定量分析に用いられる標準プラットフォームとなっています。マルチプルリアクションモニタリング (MRM) と QQQ 質量分析計を組み合わせれば、複数化合物の定量分析に対応できる、きわめて優れた感度が得られます。^{9,26, 29}



Agilent 6100 シリーズシングル四重極
質量分析計

Agilent 6100 シリーズ LC/MS システムは優れた採取スピードを備えているため、UHPLC 分離の利点を最大限に活用することができます。可変エネルギーのインソースフラグメンテーションにより、貴重な構造情報が得られます。直観的な Agilent ChemStation ソフトウェアを使えば、単一画面から LC と MS の両方を設定およびコントロールできます。また、MassHunter ソフトウェアとの統合により、さらなる分析パワーが得られます。最高 10,000 u/sec のスキャンスピードでも優れたスペクト

ル品質と正確な同位体比が得られるため、信頼性の高い同定と確認が可能です。感度を高める Agilent Jet Stream テクノロジーを、6130B および 6150B モデルでも利用できるようになりました。

Agilent 6500 シリーズ Accurate-Mass Q-TOF なら、Agilent iFunnel テクノロジーにより、フェムトグラム域の感度が得られます。このテクノロジーにより、イオン伝送率が高まり、高分解能 LC/MS 機器でもっとも優れた検出下限が実現します。Agilent 6500 Q-TOF では、イオンビーム圧縮および成形 (IBCS) 技術により、分解能と質量精度が維持されます。これにより、40k の質量分解能と m/z 20~10,000 で ppm 以下の質量精度を維持しながら、最高の感度を得ることができます。また、最大 5 桁のインスペクトルダイナミックレンジにより、多量の化合物 (API など) の存在下でも、微量ター



Agilent 6500 シリーズ Accurate-Mass
トリプル四重極飛行時間型 (Q-TOF)
質量分析計

ゲット (遺伝毒性不純物など) を検出することが可能です。最先端の MassHunter データ解析ソフトウェアは、分子構造抽出 (MFE) 機能や分子式生成 (MFG) 機能を搭載しています。分子構造相関 (MSC) ソフトウェアとともに、遺伝毒性不純物分析の困難を解消します。³⁶

Agilent 6400 シリーズトリプル四重極質量分析計は、忙しいラボに適した堅牢なソリューションを提供します。6420 からトップモデルの 6490 までは、40 倍の感度の違いがあるため、それぞれの要件に合ったシステムを選べます。6400 シリーズなら、ダイナミックマルチプルリアクションモニタリング (dMRM) に



Agilent 6400 シリーズトリプル四重極
質量分析計

よりメソッド開発を能率化および簡略化し、一定のサイクルタイムで一貫したイオン統計値を確保できるため、再現性の高いピーク面積測定が可能です。

トリガー MRM を使えば、分析時間を短縮することができます。この技術は、MRM 定量分析に、ライブラリ検索および化合物確認のためのプロダクトイオンスペクトル生成を組み合わせたものです。

強力な MassHunter Workstation ソフトウェアを使えば、メソッド最適化やデータ採取からデータ処理、レポート作成に至るまでの生産性が劇的に高まります。

ガスクロマトグラフィ (GC) および GC-MS

一般に、静的ヘッドスペースガスクロマトグラフィおよび GC-MS は、ハロゲン化合物、スルホン酸塩、エポキシドなどの多くの遺伝毒性不純物の分析に適したテクニックとされています。GC ヘッドスペースメソッドは、ICH Q3C ガイドラインに厳密に準拠しているため、世界中の品質管理ラボで残留溶媒分析に用いられています。^{9,37}

アジレントでは、ラボのニーズにぴったり合ったシステムを構成できる、幅広いガスクロマトグラフィアクセサリを提供しています。

Agilent 7697A ヘッドスペースサンブラは、111 バイアルのキャパシティと、機器の作動中に交換できる 3 つの 36 バイアルラックを備えているため、高スループットの求められ

るラボに最適です。

Agilent 7890 GC システムは、革新的なキャピラリーフローテクノロジーを搭載しています。この技術により、信頼性の高い、リークのないオープン接続が可能になります。また、複雑なマトリックスに幅広く対応し、生産性とデータ完全性の向上を実現します。



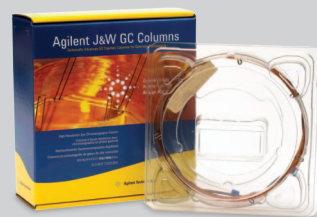
Agilent 7890B/5977A GC/MSD と
7697A ヘッドスペースサンブラ

Agilent 5977A シリーズ GC/MSD システムは、標準的な CI イオン源を用いた 1 回の自動シーケンスで、すべてのイオン化モード (PCI、NCI、EI) に対応できます。AutoCI 機能により、CI が EI 並みに簡単になります。

ほとんどのラボに対応できる MSD Productivity ChemStation と、FDA の 21 CFR Part 11 ガイドラインを遵守するラボ向けの MSD Security

ChemStation を用意しています。

Agilent J&W DB-Select 624UI <467> ウルトライナート GC カラムは、米国薬局方メソッド <467> のために特別に設計されています。USP 固定相 G43 に相当するこの相は、医薬品活性成分中の残留溶媒を分析する USP メソッド <467> において、最高の感度と重要ペアの分離能を得られる設計になっています。⁴¹



Agilent J&W DB-Select カラム

誘導結合プラズマ発光 分光分析 (ICP-OES) および 誘導結合プラズマ質量分析 (ICP-MS)

ICP-OES と ICP-MS は、DNA 変異を引き起こすおそれのある金属不純物の分析に適した、パワフルな複数元素分析テクニックです。^{9, 38, 39} 新ドラフトの元素不純物分析手順 (USP<233>) では、機器ベースのメソッドを用いて元素不純物を分析することが求められており、参照メソッドは ICP-MS か ICP-OES のいずれかをベースにしています。どちらのメソッドでも、サンプル分析は、直接分析 (非溶媒和)、水性溶媒または有機溶媒への溶解によるサンプル前処理後の分析、密閉容器マイクロ波システムを用いた酸分解後の分析という 3 つの方法でおこなわれます。



Agilent 700 シリーズ ICP-OES

Agilent 700 シリーズ ICP-OES システムは、幅広いユーザーのニーズに応えるシステムです。大量の未処理サンプルや医薬品に含まれる元素不純物について、コスト効率の良い直

接分析ソリューションを求めているラボにも対応できます。700 シリーズは、医薬品に含まれる規制対象元素のほとんどで、ppb レベルの検出下限を実現します。直接サンプル分析や小さい希釈係数が好ましい場合でも、規定の限度値を容易に満たすことができます。また、広いダイナミックレンジ、堅牢なプラズマを備えているほか、1 回の分析で多量元素、少量元素、微量元素を測定することが可能です。



Agilent 7700 シリーズ ICP-MS

Agilent 7700 シリーズ ICP-MS は優れた検出下限を備えているため、製剤原料や医薬品に含まれるすべての規制対象元素を、新メソッドを用いて規定値以下で検出することができます。大幅なサンプル希釈

が必要な場合にも対応できます。また、HPLC、GC、CE といった幅広い分離テクニックと連結できるため、同一元素の異なる化学種の分離 (スペシエーション) において、複数のオプションが得られます。サンプルの性質にもよりますが、Au や Ti など、ICH Q3D のより範囲の広い分析対象物リストにある元素を含め、ほぼすべての元素で優れた検出下限が得られます。

核磁気共鳴 (NMR) 分光分析

NMR は、分子内の結合や立体化学に関して詳細な情報が得られるため、幅広い用途に適用できます。こうした特長は、きわめて限られた量で存在することが多い遺伝毒性不純物や分解生成物の構造分析においては、特に重要となります。非破壊的、非侵襲的なテクニックであるため、きわめて低濃度で存在する不純物や分解生成物の分析には欠かせない手法です。また、不純物プロファイリングで重要となる定量的なデータも得られます。

Agilent 400-MR システムでは、優れた DirectDrive 2 RF アーキテクチャを用いて、正確なタイミングで RF およびグラジエントイベントを提供します。また、トータルパルスプログラミングコントロールにより、少量不純物のピークの定量を可能にします。DirectDigital レシーバーにより、クワドラチャアーチファクトを防止し、優れたベースライン、ダイナミックレンジ、感度を実現します。Agilent NMR システムは、使いやすい VnmrJ 4 ソフトウェアを搭載しています。統合型の実験デザイン、データ採取、データ解析、レポート



Agilent 400-MR DD2 磁気共鳴システム

作成などの機能により、迅速な分析実施と効率的な分析結果の整理を可能にします。

参考文献

1. ICH S2 (R1), Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use, **2012**.
2. Kirkland, D., and Snooding, D. Setting Limits for Genotoxic Impurities in Drug Substances: Threshold-Based and Pragmatic Approaches. *International Journal of Pharmaceutical Medicine*, **2004**, 18(4):197-20.
3. Müller, L. et al. A Rationale for Determining, Testing and Controlling Specific Impurities in Pharmaceuticals that Possess Potential for Genotoxicity. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, **2006**, 44:198–211.
4. Robinson, D. Control of Genotoxic Impurities in Active Pharmaceutical Ingredients: A Review and Perspective, *Org. Process Res. Dev.*, **2010**, 14(4):946–959.
5. Snodin, D.J., and Elder, D. Genotoxic Impurities Part 1: General Overview. *Pharmaceutical Outsourcing*, **May 2012**.
6. Liu, D.Q., Sun, M., and Kord, A.S. Recent Advances in Trace Analysis of Pharmaceutical Genotoxic Impurities. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **2010**, 51(5):999–1014.
7. Elder, D.P., Snodin, D., and Teasdale, A. Control and Analysis of Hydrazine, Hydrazides and Hydrazones-Genotoxic Impurities in Active Pharmaceutical Ingredients (APIs) and Drug Products. *J Pharm Biomed Anal.*, **2011**, 54:900-910.
8. Elder, D.P., Lipczynski, A.M. and Teasdale, A. Control and Analysis of Alkyl and Benzyl Halides and Other Reactive Organohalides as Potential Genotoxic Impurities in Active Pharmaceutical Ingredients (APIs). *J. Pharm & Biomed Anal.*, **2008**, 48:497-507.
9. Pharmaceutical Impurity Analysis Solutions Primer, Agilent publication 5991-0090EN.
10. United States Pharmacopeia, Chapter <1058>, Analytical Instrument Qualification, Rockville, USA, **2008**.
11. ICH Q2 (R1), Validation of Analytical Procedures: Definitions and Methodology, Geneva, **2005**, in 2005 incorporated in Q2 (R1).
12. Compliance for Biopharmaceutical Laboratories Primer. Agilent publication 5990-7001EN.
13. Analytical Instrument qualification and System Validation Primer. Agilent publication 5990-3288EN.
14. Validation of Analytical Methods Primer. Agilent publication 5990-5140EN.
15. ICH Q3A (R2), Impurities in New Drug Substances, **2006**.
16. ICH Q3B (R2), Impurities in New Drug Substances, **2006**.
17. ICH Q3C (R5), Impurities: Guideline for Residual Solvents, **2011**.
18. ICH M7: Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk, Business Plan, **2010**, Position Paper, **2010**.
19. EMEA, Guideline on the Limits of Genotoxic Impurities, Drafts released for consultation in **2002** and **2004**, Final version released in **2006**, CPMP/SWP/5199/02, EMEA/CHMP/QWP/2513442006; Committee for Medicinal Products (CHMP).
20. EMEA, Safety Working Group, Questions and Answers on the Guideline on the Limits of Genotoxic Impurities, EMA, **2008** and **2009** (published as an official document in 2010: 21. EMA/CHMP/SWP/431994/2007 Rev. 3) and **2012** (Published on the EMA website: <http://www.ema.europa.eu/ema>).
21. EMEA, Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC), EMEA/HMPC/107079/2007, Guideline on the Assessment of Genotoxicity of Herbal Substances/Preparations, **2008**.

- 22.FDA Draft guidance, Genotoxic and Carcinogenic Impurities in Drug Substances and Products:Recommended approaches, **2008**.
- 23.European Commission Health & Consumer Protection Directorate - General Risk Assessment Methodologies and Approaches for Genotoxic, and Carcinogenic Substances, **2009**.
- 24.ICH Q3D, Impurities:Guideline for Metal Impurities, Business Plan, **2009**, Position Paper, **2009**.
- 25.David, F., et al.Method Selection for Trace Analysis of Genotoxic Impurities in Pharmaceuticals.Chromatography Online.December, **2009**.
- 26.Siji, J., Quantification of Genotoxic "Impurity D" in Atenolol by LC/ESI/MS/MS; with Agilent 1200 Series RRLC and 6410B Triple Quadrupole LC/MS, Agilent publication 5990-4460EN.
- 27.Vanhoenacker, G., David F., and Sandra, P. Analysis of Potential Genotoxic Arylamine and Aminopyridine Impurities in Active Pharmaceutical Ingredients.Agilent publication 5990-5732EN.
- 28.Carr, J.E. et al.LC-ICP-MS for Nonmetal Selective Detection of Pharmaceuticals , Curr. Pharm.Analysis, **2008**, 4:206-214.
- 29.Direct analysis by LC/MS speeds up determination of potential, genotoxics in pharmaceutical drug candidates, Agilent publication 5989-7925EN.
- 30.Two dimensional chromatography:LC-GC online coupling of an Agilent 1260 Infinity LC and an Agilent 7890A GC.Agilent publication 5990-8025EN.
- 31.Ultra-Low Level Impurity Analysis by Capillary Zone Electrophoresis.Agilent publication 5990-3381EN.
- 32.Detection of Impurities by Heart Cutting Using the Agilent 1290 Infinity 2D-LC Solution. Agilent publication 5991-0834EN.
- 33.Single-Run Assay and Impurity Testing of Fixed-Dose Combination Drugs Using the Agilent 1200 Infinity Series High Dynamic Range Diode Array Detector Solution.Agilent publication 5991-0115EN.
- 34.Agilent 1200 Infinity Series Multi-Method Solutions:Infinitely Better for Multiple LC Methods.Agilent publication 5990-6226EN.
- 35.Agilent 1260 Infinity Method Development Solution:Automatic Scaling of Gradient Times and Flow Rates for Different Column Lengths and Diameters Using the Agilent Chemstation Method Scouting Wizard.Agilent publication 5990-6863EN.
- 36.Pharmaceutical Impurity Identification and Profiling Using Agilent Q-TOF LC/MS Combined with Advanced MassHunter Data Processing Software.Agilent publication 5991-1375EN.
- 37.Analysis of USP<467> Residual Solvents with Improved Repeatability Using the Agilent 7697A Headspace Sampler.Agilent publication 5990-7625EN.
- 38.Pharmaceutical Analysis by ICP-MS:New USP Test for Elemental Impurities to Provide Better Indication of Potentially Toxic Contaminants.Agilent publication 5990-5427EN.
- 39.Regulatory Compliance for ICP-MS.Agilent publication 5990-9073EN.
- 40.Sensitivity Enhancement for Potential Genotoxic Impurity Determination Using Agilent 1290 infinity LC system and a 60 mm Agilent Max-Light Cartridge cell.Agilent publication 5990-7443EN.
- 41.Residual Solvent Analysis with a Specifically Designed and Tested Agilent J&W DB-select 624UI for USP<467> column.Agilent publication 5991-0616EN.

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンタ

0120-477-111

研究目的にのみ使用できます。診断目的では使用できません。
本書に記載の情報は、予告なく変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2013

Printed in Japan, March 21, 2013

5991-1876JAJP



Agilent Technologies