

医薬品中不純物の分析

— 発がん性を有する物質のレギュレーションと分析 —

Dheeraj Handique^{*1}, Nitish Suryawanshi^{*1}, Crystal Yeong^{*2}, Cynthia Lahey^{*2}, Shailendra Rane^{*1}, Deepti Bhandarkar^{*1}, Anant Lohar^{*1}, Gao Jie san^{*3}, Li Qiang^{*3}, Fan Jun^{*3}, Huang Taochong^{*3}, Sun Lipeng^{*3}, Jun Nagata^{*4}



Pharmaceutical

1. はじめに

2018年、中国で製造された原薬に発がん性物質 *N*-ニトロソジメチルアミン（以下、NDMA）や *N*-ニトロソジエチルアミン（以下、NDEA）が検出され、当該原薬を使用した製剤の回収が世界的に実施されました。その後、他の製剤や原薬からの検出事例が相次いで発表され、対象製剤の回収のみならず管理指針値に基づく製造管理及び品質管理の徹底が改めて求められる事案に発展しました。

発がん性を有する不純物の管理については、日米欧医薬品規制調和国際会議（International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use：ICH）で国際的に調和された M7 ガイドライン「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」があり、この考え方を適用することができます。ICH で合意された医薬品中の不純物に関するガイドラインは、「品質に関するガイドライン（Quality）」のひとつとして Q3 カテゴリーにまとめられています。例え

ば、残留溶媒は Q3C として、元素不純物は Q3D としてガイドラインが策定され、各物質や元素に対して固有の許容限度値が設定されています。一方、発がん性物質など DNA 反応性を有する物質の管理については低濃度でも変異を引き起こすリスクがあるため、Q3 とは別のレベルでの管理が必要であり、「品質・安全性・有効性の複数領域に関わるガイドライン（Multidisciplinary）」という別のカテゴリーに策定されています。より微量な不純物を分析し管理することが要求されるため、分析法には高感度で選択性の高い分析法として、ガスクロマトグラフや液体クロマトグラフに検出器として質量分析を用いた GC/MS 法や LC/MS 法が一般的に用いられています。

本稿では、医薬品中不純物として発がん性を有する物質に関する規制についてその概要を説明すると同時に具体的な分析事例を紹介します。

*1 SHIMADZU ANALYTICAL (INDIA) PVT.LTD.

*2 SHIMADZU (Asia Pacific) Pte.Ltd.

*3 SHIMADZU (China) Co.LTD.

*4 SHIMADZU CORPORATION

2. ICH M7 ガイドライン¹⁾

ICH は、医薬品規制当局と製薬業界の代表者が協働して、医薬品規制に関するガイドラインを化学的・技術的な観点から作成する国際会議です。1990 年の創設以来、グローバル化する医薬品開発・規制・流通等に対応するべく国際的な規制調和を目指してガイドラインの作成が行われています。ICH のガイドラインは、以下の 5 段階のプロセスによって合意されます。

- Step1：新しい調和ガイドライン作成の提案（トピックス化）
専門家作業部会が設置され技術ドキュメントを作成
- Step2：技術ドキュメントの確認とガイドライン案の採択
- Step3：専門家作業部会による各地域・国の規制当局のガイドライン案の協議・修正
- Step4：総会の規制当局代表者によるガイドライン案の最終合意と採択
- Step5：各地域・国の規制当局においてガイドライン実施

ICH M7 ガイドラインは、新原薬および新製剤について、臨床開発段階およびその後の製造販売承認申請時における指針を示すことを目的として 2010 年にトピックス化され（Step1）、2014 年に最終合意に至り（Step4）、18 ヶ月の猶予期間を経て各国で適用が開始されました（Step5）。本ガイドラインで対象となる物質は、低レベルで DNA に直接損傷を与える変異原（Mutagens）です。従って、まず不純物のクラス分類を行い、DNA 反応性物質として分類された場合には本ガイドラインに則って許容限度値を決定し製造工程の管理を行うこととなります。表 1 に変異原性不純物のクラス分類を示します。クラス分類の結果、クラス 4 と 5 に分類された非変異原性不純物は、ICH Q3 ガイドラインに従って管理を行って良いとされています。

クラス分類は、まず対象物質の発がん性及び変異原性の有無を文献やデータベースなどを用いて調査することから始まります。データが存在せず変異原性が不明な物質（クラス 3）については、コンピュータを用いて変異原性試験結果を予測する「構造活性相関（Q）SAR 解析法」の実施が認められています。これは、互いに相補的な 2 種類の予測モデルを用いることとされており、一方は専門的な経験に基づくルールベースの手法が、もう一方は統計ベースの手法が用いられます。この（Q）SAR 解析法により、対象となる物質に変異原性が懸念される警告構造は含まれていないと示されれば、変異原性はないと結論付けて良いとされています。警告構造が示された場合でも、実際に Ames 試験を行い陰性であれば変異原性なしと結論付けることができます。

管理指標の設定は、まず対象となる不純物の許容摂取量を設定した上で、その許容摂取量を超えないよう原薬又は製剤中の不純物限度値が設定されます。クラス 1 に分類された物質は、その化合物に特異的な許容限度値以下で管理する必要があります。発がん性は不明だが変異原性を有するクラス 2 に分類された物質及びクラス 3 に分類されて変異原性試験を行っていない物質については、毒性学的懸念の閾値（Thresholds of Toxicological Concern：TTC）に基づいた許容限度値を設定して製造管理、品質管理が行われています。TTC は、それ以下では明らかなヒト健康被害はないとする値であり、M7 ガイドラインでは、1.5 µg/person/day が TTC に基づく許容摂取量として示されています。

なお、原薬メーカーへの GMP 監査では、ICH M7 に関する査察項目として、製法を変更する際に新規不純物として変異原性不純物が生成される潜在的リスクを評価する手順の有無、変異原性不純物が存在する場合は洗浄バリデーションや分析法バリデーションでの検証の有無、品質管理では TTC 以下であることの検証の有無などが確認されます。

本稿ではニトロソアミンを事例とした具体的な管理基準の考え方を 3 章でご紹介します。

表 1 ICH M7 における不純物のクラス分類

クラス	定義	管理方法
1	既知の変異原性発がん物質	化合物特異的な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 として、変異原性がある場合はクラス 2 として管理する
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を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

* または、遺伝子突然変異誘発と関連した DNA 反応性を示唆する、その他の関連する陽性の変異原性データ（例えば、*in vivo* 遺伝子突然変異試験における陽性所見など）

3. ニトロソアミン類の分析

2018年に中国の製造所「Zhejiang Huahai Pharmaceutical Co., Ltd. (以下 Huahai)」で製造されたバルサルタン原薬において、基準値を超える発がん性物質 NDMA と NDEA が検出されました。

その後、Huahai 以外の原薬製造所で製造されたバルサルタン原薬からも NDMA が検出され、回収が行われました。さらに、インドの製造所「Aurobindo Pharma Ltd」で製造されたイルベサルタン原薬からも NDEA が検出され、公表されました。これらサルタン系医薬品における NDMA/NDEA の検出は、その後他の製剤でのニトロソアミン類検出のきっかけとなる事案となりました。

EMA の報告³⁾では、原薬の合成過程で特定の原料（亜硝酸ナトリウム、ジメチルホルムアミド、トリエチルアミン）の存在下での副生成物としての混入、溶媒の回収や再利用からの混入の可能性などが示唆されています。

NDMA 及び NDEA は、国際がん研究機関 (IARC: International Agency for Research on Cancer) の発がん性の分類ではグループ 2A (人に対して恐らく発がん性を有する) に属します。発がん性を有する不純物管理として、ICH M7 ガイドラインの考え方を適用すると、NDMA 及び NDEA は M7 のクラス 1 に相当し、その化合物に特異的な許容限度値以下で管理することとなります。一例として、日本の厚生労働省が ICH M7 の考え方から算出したサルタン系医薬品原薬の管理指針値 (許容限度値) を表 2 に示します²⁾。管理にあたっては、各限度値以下であることを確認できる検査水準が要求されるので、検査手法における定量下限値、検出下限値はさらに低い値が要求されます。FDA は、サルタン系医薬品中 NDMA 及び NDEA の試験方法として、ヘッドスペース-GC/MS 法⁴⁾と直接注入-GC/MS 法⁵⁾を公表しました。参考として、FDA が公表した直接注入-GC/MS 法における下限値を表 3 にしました。試料前処理を考慮すると、溶液濃度として 1 ng/mL 相当の検出が要求される高感度分析となります。FDA は、NDMA 及び NDEA に *N*-ニトロソエチルイソプロピルアミン (NEIPA)、*N*-ニトロソジイソプロピルアミン (NDIPA) を追加した 4 成分の検査方法 (ヘッドスペース-GC-MS/MS 法) を、さらに *N*-ニトロソジブチルアミン (NDBA) を追加した 5 成分の検査方法 (直接注入-GC-MS/MS 法) も公表しています⁶⁾。

欧州でも、GEON (General European Official Medicines Control Laboratories Network) がサルタン系医薬品や他の医薬品中ニトロソアミン類の試験法について GC/MS 法以外にも様々な手法を開発し公表しています⁷⁾。

以降では、GC/MS 法、LC-MS/MS 法を中心としたサルタン系医薬品およびラニチジン、メトホルミン中ニトロソアミン類の具体的な分析例を紹介します。

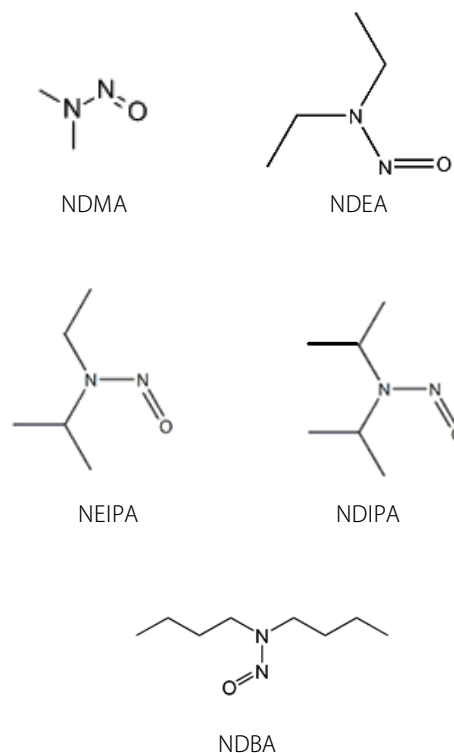


図 1 ニトロソアミン類の構造式

表 2 サルタン系医薬品の許容限度値

製剤	一日最高用量	NDMA 限度値	NDEA 限度値
バルサルタン	160 mg	0.599 ppm	0.166 ppm
イルベサルタン	200 mg	0.479 ppm	0.133 ppm
オルメサルタン	40 mg	2.39 ppm	0.663 ppm
ロサルタン	100 mg	0.959 ppm	0.265 ppm

表 3 直接注入-GC/MS 法での定量下限 (LOQ) と検出下限 (LOD)

	薬効成分		製剤	
	LOQ (ppm)	LOD (ppm)	LOQ (ppm)	LOD (ppm)
NDMA	0.05	0.01	0.08	0.015
NDEA	0.03	0.01	0.04	0.015

3-1 サルタン系医薬品中ニトロソアミンの分析 ーヘッドスペース-GC/MS 法ー

ヘッドスペースサンプラ HS-20 と GCMS-QP™2020NX を用いてサルタン系医薬品を分析した例をご紹介します。ヘッドスペース法は、試料を入れたバイアルを一定の温度で一定時間加温することで、揮発性成分を気相に抽出して GC または GC-MS に導入する試料導入方法です。不揮発性の成分が GC に導入されないため、試料気化室を汚染しない、また個体試料を溶解化しないでそのままセットすることも可能であるという利点がありますが、蒸気圧の低い成分には適していません。ここでは、FDA が公表した分析方法³⁾に基づいて分析条件の最適化を行い、バルサルタン、ロサルタン、オルメサルタン製剤を分析しました。



GCMS-QP™2020 NX + HS-20

標準溶液（ジメチルスルホキシド（以下、DMSO）溶液、2.5-10.0 ng/mL）のクロマトグラム及び検量線を図 2 に示します。良好な直線性を確認することができました。次に各製剤を DMSO で 5%（w/v）濃度に溶解し、そこに 2.5、5.0、10.0 ng/mL となるよう標準溶液を添加して回収率を確認しました。結果を表 5 に示します。±20%以内の回収率が得られました。

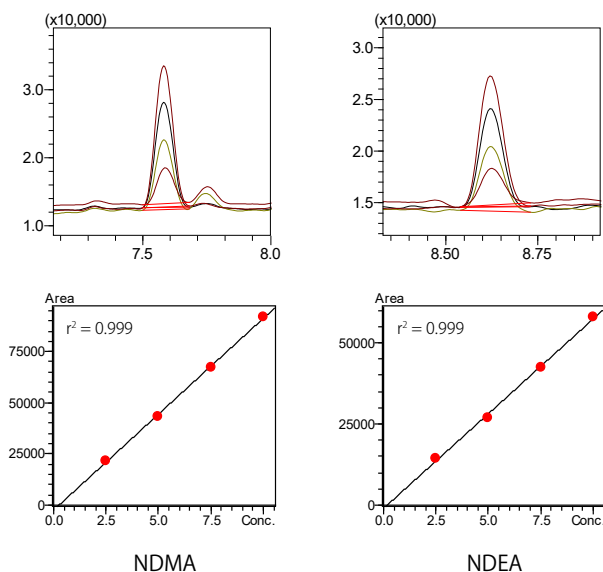


図 2 NDMA、NDEA 標準溶液のクロマトグラムと検量線

表 4 分析条件

【HeadSpace Sampler】	
Instrument	: HS-20
Mode	: Loop (1 mL)
Pressure	: 103 kPa
Oven Temp.	: 120.0 °C
Warming Time	: 15 min
【GC-MS】	
Instrument	: GCMS-QP2020 NX
Column	: SH-StabilWax, 30 m×0.32 mm I.D., 0.25 μm
Oven Program	: 40 °C (2 min)_10 °C/min_120 °C_25 °C/min_230 °C (5.6 min)
Flow control mode	: Constant linear velocity
Linear Velocity	: 45.6 cm/sec.
Injection mode	: Splitless
Ion source Temp	: 200 °C
Ionization	: EI (70 V)
Mode	: SIM (NDMA <i>m/z</i> 74.0, NDEA <i>m/z</i> 102.0)

表 5 添加回収試験結果（回収率 %）

API	Valsartan		Losartan		Olmesartan	
	NDMA (N.D.)	NDEA (130.4 ng/g)	NDMA (N.D.)	NDEA (74.1 ng/g)	NDMA (N.D.)	NDEA (130.4 ng/g)
2.5 μg/L	108.6	104.6	95.0	113.4	103.4	114.0
5.0 μg/L	99.9	96.5	96.1	107.9	89.8	88.7
10.0 μg/L	100.5	114.2	99.8	107.7	98.3	102.7

3-2 サルタン系医薬品中ニトロソアミンの分析 — 直接注入-GC-MS/MS 法 —

GC/MS 法を用いる場合、蒸気圧の低い成分を含む一斉分析にはヘッドスペース法よりも直接注入法が適しています。ここでは、FDA が公開しているニトロソアミン類分析法対象成分のうち NDMA、NDEA、NDBA の 3 種に、同様にヒト発がん性を有すると言われていた *N*-ニトロソメチルエチルアミン (以下、NMEA)、*N*-ニトロソジプロピルアミン (以下、NDPA)、*N*-ニトロソピロリジン (以下、NPYR)、*N*-ニトロソピペリジン (以下、NPIP) 4 種を加えた 7 種のニトロソアミンの GC-MS/MS 法による同時分析例をご紹介します。分析条件は FDA の直接注入-GC-MS/MS 法を参考に最適化しました。内部標準物質には安定同位体 NDMA-D6 を用いました。4 種のサルタン系製剤をそれぞれジクロロメタンで溶解・抽出し、遠心分離・フィルターろ過後、直接 GC-MSMS に注入しました。



GCMS-TQ™ 8050 NX

ニトロソアミン 7 種の混合標準溶液 (50 ng/mL) および NDMA、NDEA、NDBA (各 5 ng/mL) のクロマトグラムを図 3 と 4 に示します。2.5-100 ng/mL における直線性及び標準溶液 (5 ng/mL) における S/N、再現性は FDA が要求する基準を十分に満たす結果が得られました (表 6)。

オルメサルタン抽出液について標準添加 (5 ng/mL) による回収率を確認したところ、105-144 %の回収率が得られました。

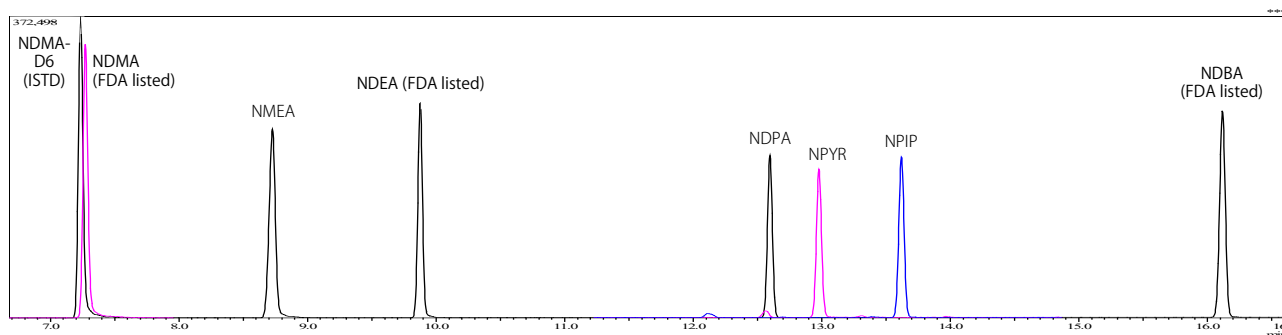


図 3 ニトロソアミン 7 種混合標準溶液の MRM クロマトグラム (50 ng/mL)

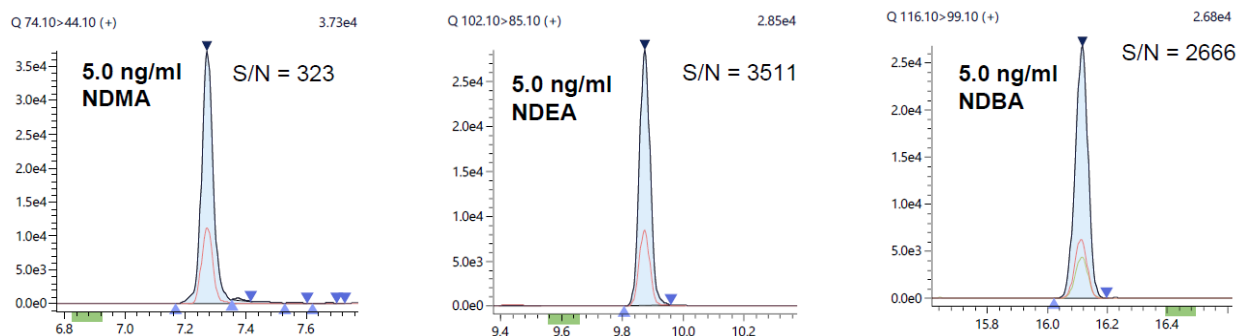


図 4 NDMA、NDEA、NDBA 標準溶液の MRM クロマトグラム (5 ng/mL) と S/N 値

表 6 直線性と再現性

成分	MRM Transition	相関係数 (2.5-100 ng/mL)	%RSD 5 ng/mL, n=6
NDMA	74.10 > 44.10	0.9995	4.37
NDEA	102.10 > 85.10	0.9998	3.42
NDBA	116.10 > 99.10	0.9999	3.96
NMEA	88.10 > 71.10	0.9997	1.79
NDPA	130.10 > 113.10	0.9993	5.61
NPYR	100.10 > 55.10	0.9991	2.68
NPIP	114.10 > 84.10	0.9997	5.27
NDMA-D6 (ISTD)	80.10 > 50.10		

表 7 分析条件

Instrument	: GCMS-TQ8050 NX
Column	: SH-Rxi™-624Sil MS, 30 m×0.25 mm I.D., 1.4 μm
Oven Program	: 38 °C (1.0 min)_12 °C/min_160 °C_5 °C/min _ 200 °C (1.0 min)
Flow control mode	: Constant linear velocity
Linear velocity	: 42.6 cm/sec
Injection mode	: Splitless (250 kPa, 2 min)
Ion source Temp	: 230 °C
Ionization	: EI (70 V)
Mode	: MRM

3-3 サルタン系医薬品中ニトロソアミンの分析 — LC-MS/MS 法 —

FDA や OMCL が公表しているニトロソアミンの分析法には GC/MS 法以外に LC-MS/MS 法も採用されています。

ここでは、オルメサルタンのニトロソアミン類 (NDMA、NDEA、NDIPA、NDBA、NEIPA、そして *N*-ニトロソメチルブチルアミン (以下、NMBA) の 6 成分) をトリプル四重極型液体クロマトグラフ質量分析計 LCMS™-8060 で分析した例をご紹介します。オルメサルタンをジクロロメタン 300 μL に溶解したのち 10% 酢酸を含むメタノールを加え 1 mL としました。その後、グリセロールを添加して蒸発・乾固し、水/メタノール (7/3) 溶液にて 1 mL に転溶し分析に供しました。



LCMS™-8060

FDA が要求する定量下限 (溶液濃度として) の 1/10 にあたる 0.1 ng/mL 標準溶液のクロマトグラムを図 5 に示します。0.1-10 ng/mL における直線性は 0.99 以上であり、この濃度範囲における真度は 80-120 % 以内に収まり良好な結果を示しました。

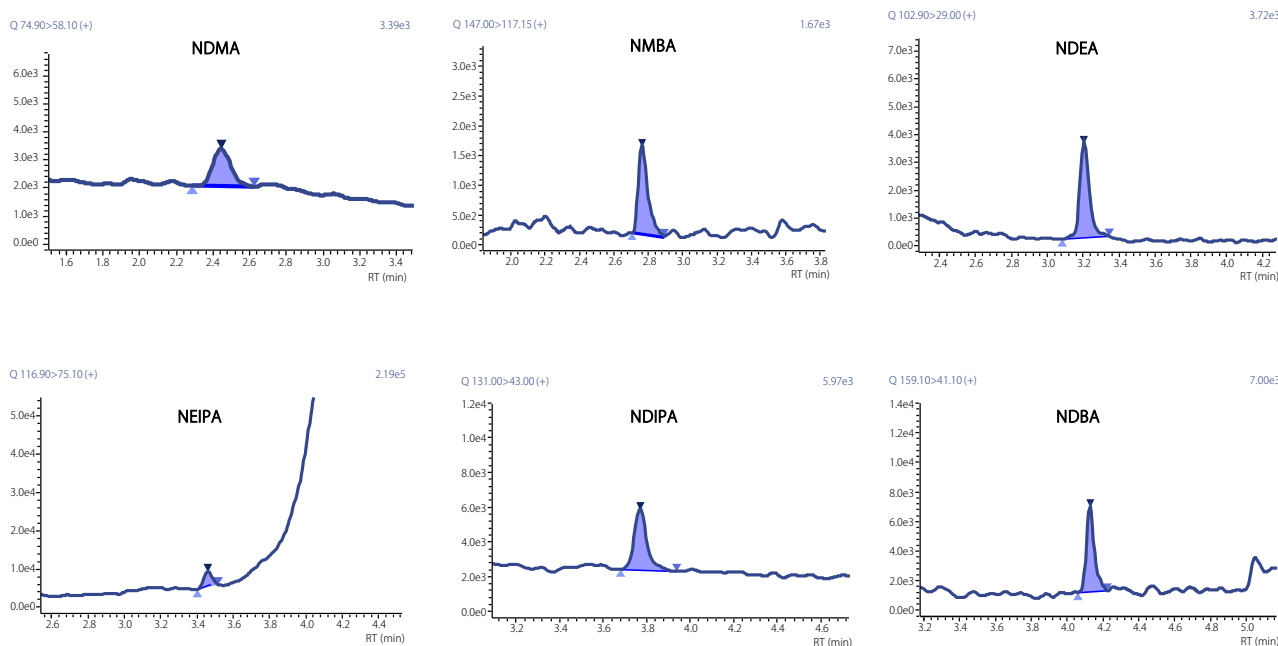


図 5 0.1 ng/mL 標準溶液のクロマトグラム

表 8 分析条件

Instrument	: LCMS-8060
【LC】	
Column	: Shim-pack Arata™ C18, 150 mm×3.0 mm I.D., 2.2 μm
Mobile Phase	: A 0.05 % formic acid Water B 0.05 % formic acid in Methanol Gradient
Flow rate	: 0.50 mL/min
Column Temp.	: 50 °C
Injection Volume	: 40 μL
【MS】	
Ionization	: APCI (Positive)
Mode	: MRM
	NDMA : 74.90>58.10
	NMBA : 147.00>117.15
	NDEA : 102.90>29.00
	NEIPA : 116.90>75.10
	NDIPA : 131.00>43.00
	NDBA : 159.10>41.10

3-4 ラニチジン医薬品中ニトロソアミンの分析

2019年9月、EMA及びFDAよりヒスタミンH₂受容体拮抗薬であるラニチジン塩酸塩の原薬及びこれを含む製剤から微量のNDMAが検出された旨の発表がありました。ラニチジンはその構造中にジメチルアミノメチル基を有しており、製造工程において亜硝酸または亜硝酸塩が存在するとNDMAが生成される可能性があることが知られています。またFDAはヘッドスペース法など加熱を伴う分析法でラニチジンやニガチジンを分析した場合、NDMAを生成することから、加熱を伴わないLC/MSによる分析法を推奨しています。ここではラニチジン中NDMAを四重極飛行時間(QTOF)型のLC/MS法で分析した例をご紹介します。なお、ジメチルアミノメチル基をその構造中に持つニガチジンも、ラニチジンと同様にNDMA含有の有無について確認する必要があります。

ラニチジン製剤は120mgをメタノール4mLに溶解して分析に供しました。標準溶液1.14-146ng/mLにおける検量線の直線性は相関係数0.999以上であり、各検量線ポイントでの真度は80-120%以内に収まり良好な結果を示しました(図6)。標準溶液1.0ng/mL(製剤中の濃度として0.033ppmに相当)におけるS/Nは13、2.0ng/mLにおけるピーク面積値の相対標準偏差は8.4%でした(表10)。標準溶液0.1ppm相当を添加した試料(3試料)の回収率は平均で88.4%でした(図7)。



LCMS™-9030

表9 分析条件

Instrument	: LCMS-9030
【LC】	
Column	: Shim-pack™ GIST C18, 150 mm×4.6 mm I.D., 5.0 μm
Mobile Phase	: A 0.1% formic acid Water B Methanol Gradient
Flow rate	: 1.0 mL/min
Column Temp.	: 40 °C
Injection Volume	: 5 μL
【MS】	
Ionization	: APCI (Positive)
Mode	: Scan (m/z50-95)

表10 標準溶液(2.0ng/mL)における再現性

	ピーク面積値	保持時間(分)
1	1892	4.107
2	1953	4.133
3	1595	4.118
4	1820	4.123
5	2040	4.142
6	1776	4.127
平均	1846	4.122
%RSD	8.4	0.29

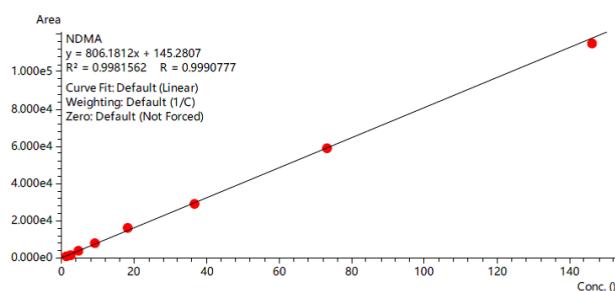


図6 検量線

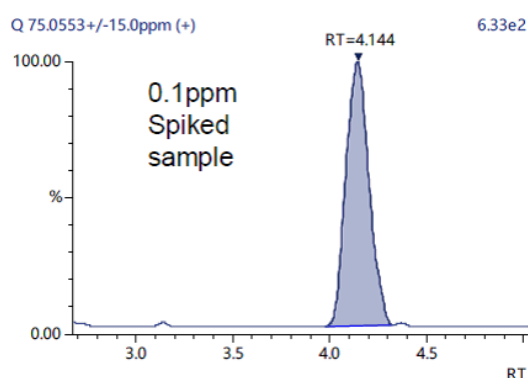
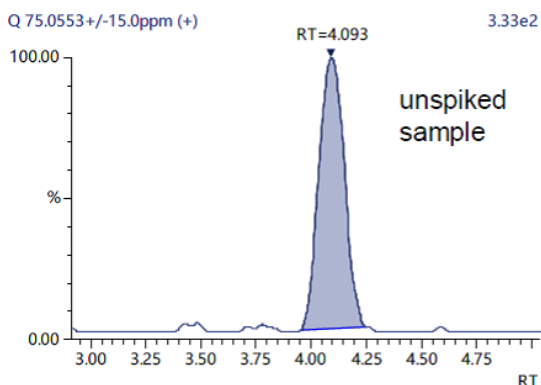


図7 実試料および標準添加試料のクロマトグラム(実試料中濃度:0.11ppm)

3-5 メトホルミン塩酸塩中ニトロソアミンの分析

2019年、シンガポール保健科学庁より、ビグアナイド系血糖降下薬であるメトホルミン塩酸塩（以下、メトホルミン）を含有する製剤からNDMAが検出されたことに伴い、シンガポールの一部の事業者が当該製剤の自主回収に着手した旨が公表されました。シンガポールにおけるメトホルミン製剤中NDMAの試験法には、高分解能・精密質量分析計によるGC/MS法が採用されています⁸⁾が、ここではトリプル四重極型ガスクロマトグラフ質量分析計 GCMS-TQ™8050 NX を用いて分析した例をご紹介します。

試料は粉碎後メトホルミンとして0.5gに相当する量を秤りとり、1N塩酸10mLに溶解し、その後ジクロロメタン10mLに抽出し、分析に供しました。



標準溶液（0.25 ng/mL）および実試料とその標準添加溶液のクロマトグラムを図8、9に、標準添加による回収率を表12に示します。これらの結果から、トリプル四重極型ガスクロマトグラフ質量分析計 GCMS-TQ8050NX がメトホルミン中NDMA分析に十分に適応可能なことを確認することができました。

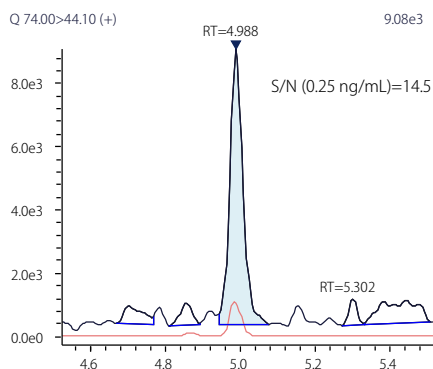


図8 標準溶液（0.25 ng/mL）のクロマトグラム

表11 分析条件

Instrument	: GCMS-TQ8050 NX
Column	: SH-Rtx™-Wax, 30 m×0.25 mm I.D., 0.5 μm
Oven Program	: 60 °C (0.5 min)_15 °C/min_150 °C_20 °C/min_240 °C (2 min)
Flow control mode	: Constant linear velocity
Linear velocity	: 51.6 cm/sec
Injection mode	: Splitless
Ion source Temp	: 230 °C
Ionization	: EI (70 V)
Mode	: MRM (Target: 74.00 > 44.10, Reference: 74.00 > 42.10)

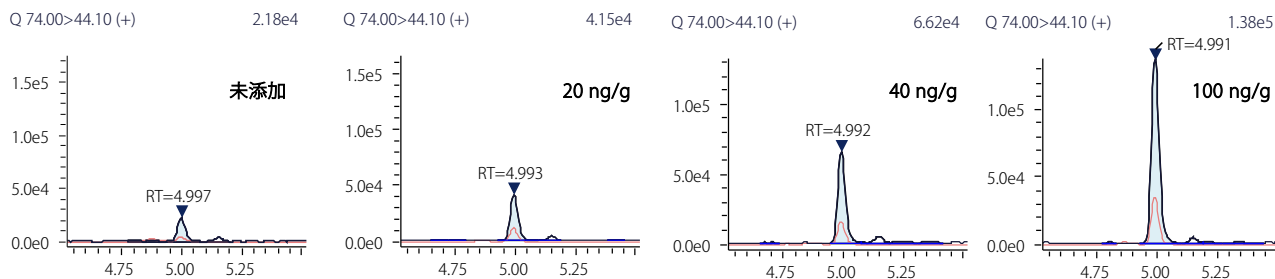


図9 メトホルミン製剤および標準添加試料のクロマトグラム

表12 添加回収率の結果

添加濃度 (ng/g)	未添加試料中濃度 (ng/g)	検出濃度 (ng/g)						平均濃度 (ng/g)	RSD%	回収率 (%)
		1	2	3	4	5	6			
20	13.6	28.6	31.0	29.6	32.0	31.2	30.8	30.6	3.94	85.0
40	13.6	45.8	47.0	49.8	47.0	50.6	50.4	48.4	4.39	87.0
100	13.6	101.2	98.8	101.4	99.4	99.0	100.8	100.2	1.20	86.6

4. メタンサルホン酸エステルの分析

メタンサルホン酸は、塩形成におけるカウンターイオンとして原薬の製造に広く用いられていますが、有害なアルキルエステルが副生成物として生成することが知られています。IARC の発がん性の分類では、メタンサルホン酸メチル（以下、MMS）がグループ 2A（ヒトに対して恐らく発がん性を有する）に、メタンサルホン酸エチル（以下、EMS）がグループ 2B（ヒトに対して発がん性を有する疑いがある）に属しています。これに ICH M7 ガイドラインの考え方を適用すると M7 のクラス 1 に相当するので、NDMA 及び NDEA と同様に、その化合物に特異的な許容限度値以下の管理が求められます。以降では、EP⁹ の試験法を参考に最適化したメタンサルホン酸及び製剤中の MMS、EMS、メタンサルホン酸イソプロピル（以下、IMS）の分析例をご紹介します。



GCMS-QP™2020 NX

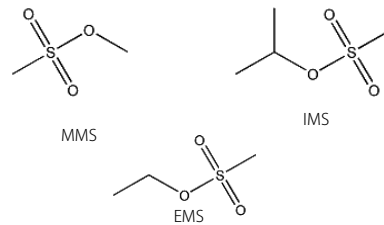


図 10 メタンサルホン酸エステル類の構造式

4-1 GC/MS 法による分析

内部標準としてメタンサルホン酸ブチル（以下、BMS）を用いた内部標準法で分析を行いました。1.0–10000 ng/mL の範囲で標準溶液を調製し、検量線を作成しました。クロマトグラムを図 11 に示します。1.0 ng/mL のクロマトグラムにおける S/N から算出した検出下限（S/N=3）は各成分 0.3 ng/mL でした。標準溶液のクロマトグラム及び検量線を図 12 に示します。メタンサルホン酸を水で希釈後ジクロロメタンに抽出して測定したところ、MMS は 10.9 µg/g、EMS と IMS は 0.03 µg/g 検出されました。

表 13 分析条件

Instrument	: GCMS-QP2020 NX
Column	: non porous, 15 m×0.25 mm I.D., 1.0 µm
Oven Program	: 55 °C (4.0 min)_8 °C/min_95 °C (4.0 min) _40 °C/min_295 °C (1 min)
Flow control mode	: Constant Flow
Linear velocity	: 1.0 mL/min
Injection mode	: Splitless
Ion source Temp	: 230 °C
Ionization	: EI (70 V)
Mode	: SIM

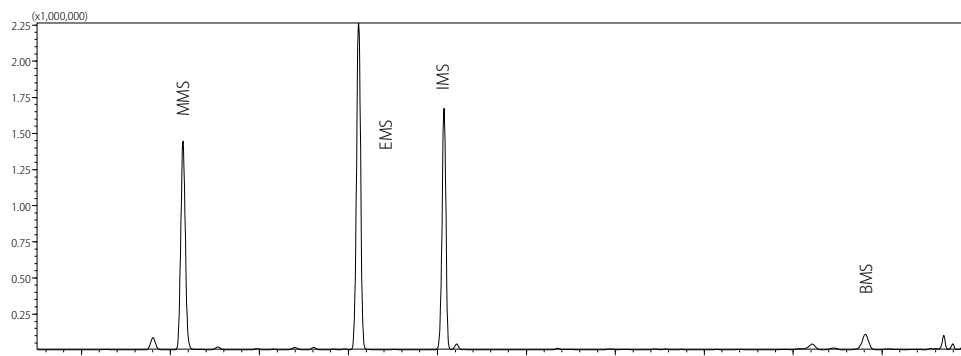


図 11 標準溶液（1000 ng/mL）のクロマトグラム

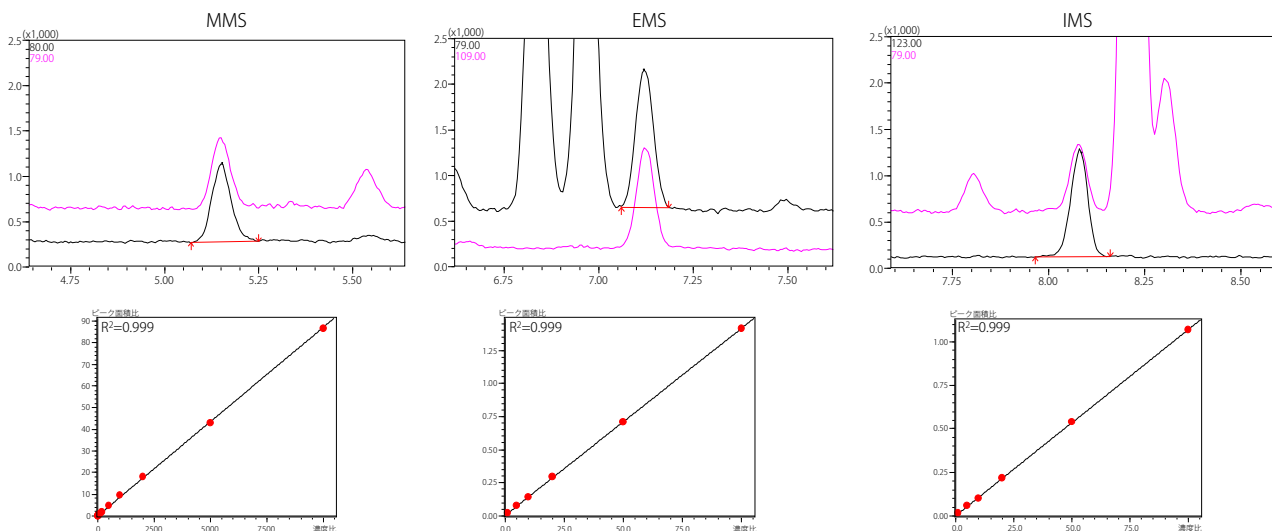


図 12 標準溶液（1.0 ng/mL）のクロマトグラムと検量線

4-2 ヘッドスペース-GC/MS 法による分析

メニエール病によるめまい等の症状緩和に用いられるベタヒスチンメシル酸塩中の MMS、EMS、IMS をヘッドスペース-GC/MS 法で分析した例をご紹介します。メタンスルホン酸エステルは沸点が 200 °C 以上と高く、そのままでは気相に抽出されにくいいため、ヘッドスペースバイアル内でヨウ化メチル、ヨウ化エチル、ヨウ化プロピルに誘導体化して測定を行いました。表 14 に分析条件を示します。GC-MS 法と同じく BMS を用いた内部標準法を用いました。誘導体化溶液には無水チオ硫酸ナトリウム 30 mg とヨウ化ナトリウム 60 mg を水で溶解し 50 mL に定容したものを用いました。この誘導体化溶液 0.5 mL を試料 25 mg といっしょにヘッドスペースバイアルに入れて試料を溶解した後、分析に供しました。MMS、EMS、IMS 混合標準溶液も同様にヘッドスペースバイアル内で誘導体化して測定を行い、1.5–250 ng/mL (IMS は 3.0–250 ng/mL) の範囲で検量線を作成しました。標準溶液 250 ng/mL および 3 ng/mL のクロマトグラムと検量線を図 13、14 に示します。試料から MMS、EMS、IMS は検出されなかったため、標準添加による回収試験を行ったところ良好な回収率を確認することができました (表 15)。



GCMS-QP™2020 NX + HS-20

表 14 分析条件

【HeadSpace Sampler】	
Instrument	: HS-20
Mode	: Loop (1 mL)
Oven Temp.	: 60.0 °C
Warming Time	: 30 min
【GC-MS】	
Instrument	: GCMS-QP2020 NX
Column	: Polar (PEG), 30 m×0.25 mm I.D., 1.0 μm
Oven Program	: 40 °C (1 min)_10 °C/min_130 °C_40 °C/min_240 °C (7 min)
Flow control mode	: Constant Flow
Linear velocity	: 0.5 mL/min
Injection mode	: Splitless
Ion source Temp	: 240 °C
Ionization	: EI (70 V)
Mode	: SIM

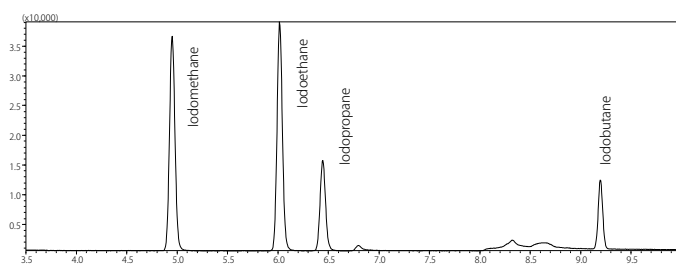


図 13 標準溶液 (250 ng/mL) のクロマトグラム

表 15 添加回収率の結果

成分名	濃度 (μg/g)	添加量 (ng)	平均回収率 (%、n=3)
MMS	N.D.	40	102.3
EMS	N.D.		107.7
IMS	N.D.		110.9

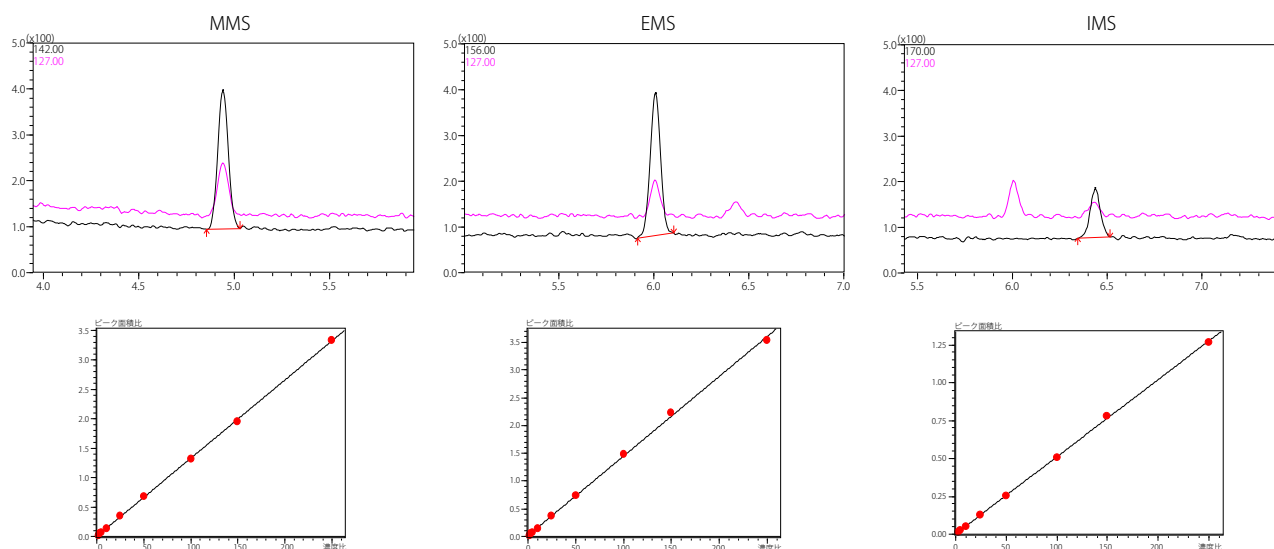


図 14 標準溶液 (3.0 ng/mL) におけるクロマトグラムおよび検量線

5. ベンゼンスルホン酸エステル、*p*-トルエンサルホン酸エステルの分析

同じく医薬品のカウンターイオンとして使用されるベンゼンスルホン酸及びトルエンサルホン酸の分析例をご紹介します。ここでは、降圧剤のアムロジピンベシル酸塩中のベンゼンスルホン酸メチル（以下、MBS）、エチル（以下、EBS）、イソプロピル（以下、IBS）、及びペニシリン系抗生物質であるスルタミシリントシル酸塩中の *p*-トルエンサルホン酸メチル（以下、MTS）、エチル（以下、ETS）、イソプロピル（以下、ITS）をヘッドスペース-GC/MS 法で分析しました。メタンサルホン酸エステルと同様にヘッドスペースバイアル内でヨウ化物に誘導体化して GC-MS に導入しました。前処理操作および分析条件については 4-2 を参照ください。1.5–250 ng/mL（IMS は 3.0–250 ng/mL）の範囲で検量線を作成したところ、全ての成分で 0.999 以上と良好な直線性を確認することができました。また、標準添加による回収試験を行ったところ良好な回収率を確認することができました（表 16、17）。



GCMS-QP™2020 NX + HS-20

標準溶液 3.0 ng/mL のクロマトグラムを図 15 に示します。この結果から検出下限（S/N=3）を算出したところ、ベンゼンスルホン酸エステルとトルエンサルホン酸エステルのいずれもメタンサルホン酸エステルと同等の定量下限が得られたことから、誘導体化の反応率に大きな違いがないことを確認することができました。

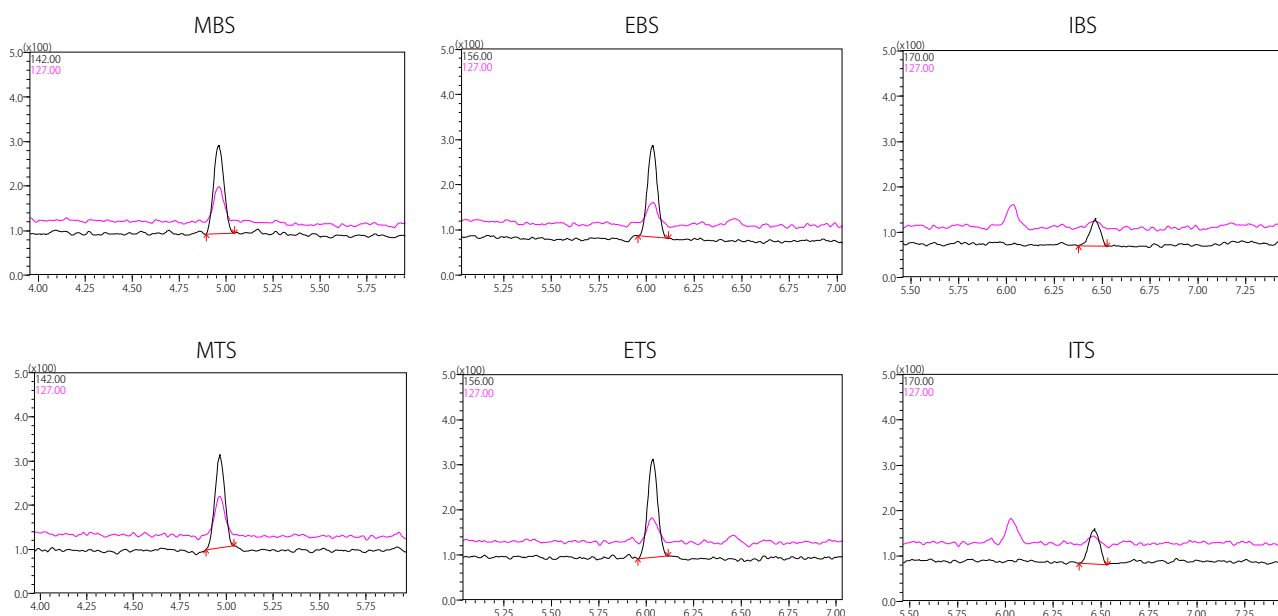


図 15 標準溶液 (3.0 ng/mL) におけるクロマトグラム

表 16 添加回収率の結果 (Besilate)

成分名	濃度 (µg/g)	添加量 (ng)	平均回収率 (%、n=3)
MBS	0.17	2.5	102.1
EBS	0.04		95.9
IBS	N.D.		86.7

表 17 添加回収率の結果 (Tosilate)

成分名	濃度 (µg/g)	添加量 (ng)	平均回収率 (%、n=3)
MTS	0.81	10	106.6
ETS	0.05		105.4
ITS	N.D.		91.8

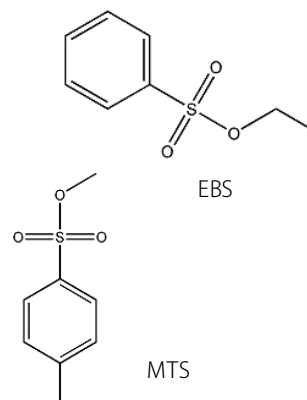


図 16 ベンゼンスルホン酸エチルおよび *p*-トルエンサルホン酸メチルの構造式

<参考文献>

- 1) <https://www.pmda.go.jp/int-activities/int-harmony/ich/0014.html>
- 2) <https://www.mhlw.go.jp/content/11121000/000378171.pdf>
- 3) https://www.ema.europa.eu/en/documents/referral/nitrosamines-emea-h-a53-1490-information-nitrosamines-marketing-authorisation-holders_en.pdf
- 4) FDA U.S. Food & Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research: Combined N-Nitrosodimethylamine (NDMA) and N-Nitrosodiethylamine (NDEA) Impurity Assay by GC/MS-Headspace
- 5) FDA U.S. Food & Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research: Combined Direct Injection N-Nitrosodimethylamine (NDMA) and N-Nitrosodiethylamine (NDEA) Impurity Assay by GC/MS
- 6) FDA U.S. Food & Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research: Combined N-Nitrosodimethylamine (NDMA), N-Nitrosodiethylamine (NDEA), N-Nitrosoethylisopropylamine (NEIPA), N-Nitrosodiisopropylamine (NDIPA), and N-Nitrosodibutylamine (NDBA) Impurity Assay by GC-MS/MS
- 7) <https://www.edqm.eu/en/ad-hoc-projects-omcl-network>
- 8) <https://www.hsa.gov.sg/docs/default-source/announcements/safety-alerts/determination-of-ndma-in-metformin-products-by-hram-gcms.pdf>
- 9) European Pharmacopoeia 9.0

GCMS-QP™2020 NX + HS-20 シリーズ



さまざまな分野で利用される GC-MS は、今や分析の汎用機となっています。GCMS-QP2020 NX は、分析のあらゆる場面に対しての効率化を提案し、ラボの可能性を最大限に広げます。また、医薬品残留溶媒測定に広く用いられているヘッドスペースサンプリング HS-20 シリーズには、電子冷却トラップによる濃縮機能を備えたトラップモデルがあります。トラップモデルを用いることでさらに微量な成分の測定が可能となります。

GCMS-TQ™8050 NX



GCMS-TQ8050 NX は、新たな高効率検出器と3つのノイズ低減技術を搭載し、これまで到達できなかったフェムトグラムオーダーでの極微量の定量分析が可能になりました。その圧倒的な超高感度を活かして、長期利用でのメンテナンス頻度・コストの削減や高質量分解能による更なるきょう雑物との高分離といった新たな領域の定量分析を提案します。

LCMS™-8060



最適化したイオン導入部とそれに続くイオン輸送工学系の新技術により、イオンサンプリング効率とイオン収束力が大幅に向上しました。LCMS-8050 からの高速性能を継承しており、世界最高レベルの感度と世界最高のスループットを両立した UFMS™シリーズの最上位モデルです。最高感度が必要とされる生体試料中の微量定量を含むあらゆる微量定量アプリケーションにおけるデータクオリティのさらなる向上に貢献します。

LCMS™-9030



LCMS-9030 は、LCMS-8000 シリーズで培ってきた高速性能 (UF Technologies) と高いイオン収束力に、島津 TOF 新技術が融合して誕生した「国産初」の四重極飛行時間型質量分析計です。

LCMS-8000 シリーズの機能を継承するとともに、精密質量分析という新たな機能が追加されており、定性・定量分析において高いパフォーマンスを発揮します。

GCMS-QP、GCMS-TQ、LCMS、Shim-pack、Shim-pack Arata、および UFMS は、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。Stabilwax、Rxi、および Rtx は、Restek Corporation の米国およびその他の国における商標または登録商標です。その他、本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

株式会社 島津製作所
分析計測事業部 <http://www.an.shimadzu.co.jp/>

本資料の掲載情報に関する著作権は当社または原作者に帰属しており、権利者の事前の書面による許可なく、本資料を複製、転用、改ざん、販売等することはできません。掲載情報については十分検討を行っていますが、当社はその正確性や完全性を保証するものではありません。また、本資料の使用により生じたいかなる損害に対しても当社は一切責任を負いません。本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。

初版発行：2020年6月
© Shimadzu Corporation, 2020