

# ニトロソアミンのリスク軽減：

医薬品添加剤の重要な役割およびサプライヤーの適格性

Alberto Berardi, Pauline H.M. Janssen, Bastiaan H.J. Dickhoff and Sander van Gessel  
DFE Pharma, Goch, Germany

## 緒言

製剤中のニトロソアミンの評価は、製薬業界の多くの研究者にとって大きな課題となっている。2018年、欧州医薬品庁（EMA）は、ニトロソアミン不純物の混入による複数のバルサルタン製剤の回収を発表した。ニトロソアミンは遺伝毒性物質であり、発がん性がある、または発がん可能性がある物質に分類される（Brambilla and Martelli, 2007）。製剤からの摂取を通じた、6種のニトロソアミンの最大許容摂取量は26.5~96 ng/日である（EMA, 2022a; US FDA, 2021）。

ニトロソアミン不純物は、通常、原薬の製造に由来するか、または保存期間中の製剤に形成される。原薬製造時に生成したニトロソアミンは、通常、後続の工程、または追加の精製操作で除去することが可能である。しかし、最終製剤中に形成されるニトロソアミン類は除去することができない。第二級アミンのような感受性の高い原薬の場合、適切な条件下（例えば、高温、酸性条件、液相）での亜硝酸塩のようなニトロソ化剤と反応することにより、ニトロソアミンが形成される。図1に第二級アミンが亜硝酸塩と反応してN-ニトロソアミンを生成することを示す。最終的には三酸化二窒素（ $N_2O_3$ ）とニトロシルイオン（ $NO^+$ ）がニトロソ化剤であるが、亜硝酸塩はこれらのニトロソ化剤の最も重要な前駆体である。硝酸塩は、還元されると亜硝酸塩に変換される可能性があるため、二次的な焦点として注目すべきものである（Boetzel et al., 2022; Lin, 1990; Nanda et al., 2021）。亜硝酸塩は一般的に低濃度で存在することを考慮すると、感受性の高い原薬のニトロソアミンの量は、製剤に蓄積した亜硝酸塩の量に比例すると予想される。

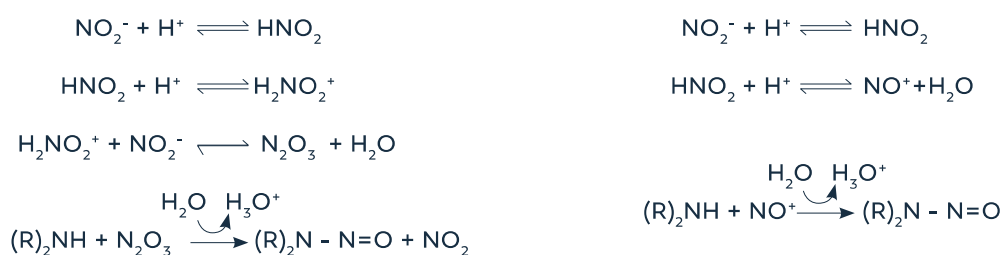


図1 第二級アミンからのN-ニトロソアミン生成経路

現在、医薬品製造販売業者（MAH）は、製剤中のニトロソアミン不純物の存在を低減するよう、複数の規制当局から要請されている（EMA, 2022b, 2022a; US FDA, 2021）。FDAおよびEMAは両者とも、原薬および医薬品製造業者が従うべき3段階の軽減戦略を提案している。第1段階にはリスク評価の実施が含まれ、第2段階は試験による特定されたリスクの確認であり、第3段階は製剤中のニトロソアミン不純物の生成を防止および低減するために実施した変更を報告することである。

医薬品製造業者によるリスク評価は、医薬品製剤時のニトロソアミンの生成および汚染の潜在的な原因を評価できるように行われる必要がある。添加剤は、医薬品のリスク評価において潜在的リスク因子として考慮されるが、ニトロソアミンの存在リスクは非常に低い。しかし、多くの添加剤には微量の亜硝酸塩が含まれており、最終的には製剤内の特定の条件下でニトロソアミンが形成される可能性がある。添加剤のサプライヤーは、MAHが最終製剤中のニトロソアミン不純物の存在リスクを評価できるように、添加剤に関する情報を提供する必要がある（IPEC Federation, 2022）。

FDAおよびEMAのガイダンス文書には、ニトロソアミンの生成の抑制を目的とした複数の軽減策が記載されている（EMA, 2022b; US FDA, 2021）。これには、革新的な軽減戦略を検討することが推奨されるが、製剤の処方設計とサプライヤーの適格性確認が含まれる2つの重要な戦略がある。

## 処方設計

添加剤を含む全ての製剤成分は、亜硝酸塩などのニトロソ化前駆体物質を含む可能性があり、これが製剤中のニトロソアミンの形成に寄与することがある。したがって、ニトロソアミンの形成を抑制するために、亜硝酸塩の量が低い添加剤を用いた処方改良が有効であると考えられる。また、アスコルビン酸又は $\alpha$ -トコフェロールなどの抗酸化物質を加えて、反応を抑制することも可能である（Mergens, 1982; Nanda et al., 2021; Ziebarth and Scheunig, 1976）。ただし、阻害剤は一般的に反応性が高く、原薬または製剤中の他の化学物質と相互作用する可能性があるため、阻害剤を用いた処方変更は慎重に検討する必要がある。また、ニトロソアミン生成反応は酸性条件下で促進されるため、微小環境のpHを上昇させることでニトロソアミンの生成速度を抑制することができると考えられる（Ziebarth and Scheunig, 1976）。したがって、炭酸ナトリウムのようなpH調整剤を組み込むことで、ニトロソアミンの形成を低減することもできる。また、この場合、pH調整剤が原薬の安定性を妨げないように注意する必要もある。

## サプライヤー適格性確認

サプライヤーの適格性確認は、FDAガイダンスにも記載されている軽減戦略であり、医薬品の承認申請資料への影響は少ないかもしれない。これは、硝酸塩および亜硝酸塩の含有量が添加剤のロットやサプライヤーによって、著しく異なるという観察結果に基づく (Boetzel et al., 2022)。多くの添加剤メーカーは、リスク評価のみに基づいて亜硝酸塩に関する情報を提供する。あるいは、データが入手可能な場合、感度の悪い（すなわち、少量の亜硝酸塩が検出できない）分析方法で測定され、サプライヤー間の区別が困難である。

## 亜硝酸塩含有量に関する添加剤の種類とサプライヤーのベンチマーク

MAHが様々な添加剤を用いた処方変更戦略を選択するか、又はサプライヤーの適格性評価を選択するかにかかわらず、科学文献は、添加剤間、サプライヤー間、ロット間の亜硝酸塩のばらつきの程度を評価するための有用なツールとなる。早期調査で、Wuらは様々な賦形剤、スーパー崩壊剤、結合剤、滑沢剤および流動促進剤において亜硝酸塩と硝酸塩の含有量をスクリーニングした (Wu et al., 2011)。その結果、亜硝酸塩と硝酸塩不純物は添加剤に含まれるが、その量は添加剤の種類およびサプライヤーに大きく依存することが示された。これは、処理水、酸滴定の手順、漂白および乾燥中の空気の酸化など、製造上の軽微な違いによるものである。最近では、Lhasa Limited社が「添加剤の亜硝酸塩」データベースを構築し、その結果の一部がBoetzelらの論文で紹介された。これにより示されたのは、1) 亜硝酸塩含有量の平均値とそのバラツキが添加剤によって大きく異なること、2) 同じ添加剤の種類であっても、サプライヤーによって数値に大きな差があることであった (Boetzel et al., 2022)。

賦形剤のような添加剤は、製剤に大きな割合で配合されるため、処方変更（すなわち代替添加剤への変更）またはサプライヤーの適格性評価（代替サプライヤーへの変更）が非常に重要である。これらの添加剤は、崩壊剤、流動促進剤および滑沢剤などの低用量成分より、不純物の混入に高く影響を及ぼす。ただし、低用量の添加剤であっても、具体的な状況に応じて、適切に選択することも考慮しなければならない。例えば、スーパー崩壊剤の1種であるクロスポビドンは、賦形剤の結晶セルロース (MCC) や乳糖に比べて、亜硝酸塩の平均値が9~12倍高い。したがって、クロスポビドンによる亜硝酸塩への寄与は、製剤中の濃度が比較的低いにもかかわらず

ず、全体として高いと考えられる。感受性の高い原薬の処方においては、クロスロビドンをクロスカルメロースナトリウム（亜硝酸塩含有量の平均値が15分の1である）で置き換えることは有効な選択肢となり得る（Boetzel et al., 2022）。

同じ種類の添加剤でも、サプライヤーによって不純物の量が異なる。表1は、Boetzelらの報告によるMCCのサプライヤー8社の亜硝酸塩含有量の中央値を示す。検査された検体数は、サプライヤーごとに異なることに留意することが必要である。詳細については、原文（Boetzel et al., 2022）をご覧ください。サプライヤーによって亜硝酸塩含有量の中央値は大きく異なり、最大で16倍以上にもなることがある。

表1 異なるサプライヤーによる、MCCの亜硝酸塩の量（中央値）（Boetzel et al., 2022）。ppm  
=  $\mu\text{g/g}$

Supplier								
	#1	#2	#3	#4	#5	#6	#7	#8
Nitrite	1 ppm	0.1 ppm	1 ppm	0.2 ppm	1 ppm	1.2 ppm	0.2 ppm	1.6 ppm

### DFE Pharmaの添加剤における亜硝酸塩および硝酸塩

DFE Pharmaは、早い時期からニトロソアミン生成の問題を理解しようと試みてきた添加剤メーカーである。当社の専門知識の基盤は、親会社であるFrieslandCampinaが得た知識に関するものである。この乳業メーカーは、（乳児用）食品中の汚染物質に関する厳格な規制のため、すでにニトロソ化剤の経験を有している（European Union, 2006）。弊社がMAHのニトロソアミンリスク評価をサポートするための第一歩として、IPEC Europeの質問票を用いた。この質問票には、リスクの最初の指標として添加剤の構造と原材料を検討するためのマトリックスが含まれる。検討した要因は、製造工程におけるニトロソ化剤の存在、使用する水の種類、リサイクル／回収溶媒の使用、アミン、アミド、第一級アミンまたはアンモニウム塩の存在、並びに機器の多用途使用であった。結論として、ニトロソアミンやニトロソ化剤が添加剤に含まれる可能性は非常に低いと判断された。分析データから、ニトロソアミン、硝酸塩および亜硝酸塩の含有量が検出限界未満であることが確認された。

最初の定量法では、添加剤に含まれる少量の亜硝酸塩および硝酸塩を検出するのに十分な感度がなかったため、より感受性の高い方法を特定した（ISO-14673-2: 2004 (E): セグメントフロー解析）。この方法は、牛乳および乳製品に対してバリ

デーションされているが、添加剤に対してまだバリデーションされていない。表2に弊社の添加剤における亜硝酸塩および硝酸塩の量を示す。

表2 ISO-14673-22004 (E)：セグメントフロー解析により測定した添加剤における亜硝酸塩および硝酸塩の含有量。検出限界（LOD）および定量限界（LOQ）が表される。SSG=デンプングリコー  
ル酸ナトリウム、CCS=クロスカルメロースナトリウム

Product class	Brand name	Nitrate (LOD=0.1ppm; LOQ=0.3ppm)	Nitrite (LOD= 0.03ppm; LOQ= 0.1ppm)
MCC	Pharmacel®	0.8 ppm	<0.1 ppm
Milled and sieved lactose	Pharmatose®	0.7 ppm	<0.1 ppm
	Lactochem®	1.4 ppm	<0.1 ppm
Direct compression lactose	SuperTab®	0.7 ppm	<0.1 ppm
	SuperTab® NZ	7.7 ppm	0.7 ppm
Inhalation lactose	Respitose®	0.7 ppm	<0.1 ppm
Superdisintegrants	Primojel® (SSG)	2.0 ppm	<0.1 ppm
	Primellose® (CCS)	0.6 ppm	<0.1 ppm
Starches	Solani Amylum	0.5 ppm	<0.1 ppm
	Prejel	0.6 ppm	<0.1 ppm
Stabilizers	BioHale® sucrose	0.4 ppm	<0.1 ppm
	BioHale® trehalose	0.4 ppm	<0.1 ppm

亜硝酸塩の含有量は、一般的にLOQの0.1 ppmより低い。この測定法の唯一の限界は、ほとんどの製品において亜硫酸塩の量が検出方法のLOQを下回るという事実である。したがって、ほとんどの製品で示される0.1 ppm未満という値は、過大な推定である最悪のシナリオであり、正確な値がどの程度低いかは不明である。より感度の高い定量法が利用可能になり次第、正確なデータを収集する。定量法は異なるにもかかわらず、得られたデータとBoetzelらの論文で報告されたものと比較することができる。MCC、乳糖、およびスーパー崩壊剤については、弊社は亜硝酸塩レベルが最も低いサプライヤーに属している。ニュージーランドのKapuniで製造された直打用乳糖の亜硝酸塩の量のみが、異なるサプライヤー間の平均値として報告されている0.54 ppmよりわずかに高い (Boetzel et al., 2022)。

## 将来の展望

規制当局と製薬業界はともに、患者へのニトロソアミン曝露のリスクを低減するための重要な措置を講じている。添加剤メーカーは、医薬品サプライチェーンにおいて重要な役割を担っており、製剤中のニトロソ化剤を管理する責任がある。理想的には、添加剤メーカーは、低い亜硝酸塩の含有量を維持するとともにその一貫性を

保証する管理戦略を導入することにより、高品質な製品を供給し、安全な使用を促進できるようにすべきであるしかし、このアプローチを実施するための現在の課題は、少量の亜硝酸塩を検出するための分析方法である (Wang et al., 2017) 。本来なら10億分の1 (ppb) まで定量可能な分析方法が利用できることが望ましい。リスクの高い製剤については、分析方法の改善により、添加剤メーカーと医薬品製造業者との間で亜硝酸塩の規格限界値が合意される可能性がある。亜硝酸塩および硝酸塩の濃度の低い添加剤を使用することは合理的である。しかし、添加剤の製造に用いられる原材料にごくわずかに亜硝酸塩および硝酸塩が含まれており、除去することはできないため、それらを含まない添加剤という要求は非現実的である。これらのステップにより、最終製品メーカーは医薬品に含まれるニトロソアミン不純物を低減することができる。 - DFE Pharmaは、より健康な世界へ向けて、皆様と共に歩んでいきます。



## 参考文献

- Boetzel, R., Schlingemann, J., Hickert, S., Korn, C., Kocks, G., Luck, B., Blom, G., Harrison, M., François, M., Allain, L., 2022. A Nitrite Excipient Database: A useful Tool to Support N-Nitrosamine Risk Assessments for Drug Products. *J. Pharm. Sci.*
- Brambilla, G., Martelli, A., 2007. Genotoxic and carcinogenic risk to humans of drug–nitrite interaction products. *Mutat. Res. Mutat. Res.* 635, 17–52.
- EMA, 2022a. Questions and answers for marketing authorisation holders/applicants on the CHMP Opinion for the Article 5(3) of Regulation (EC) No 726/2004 referral on nitrosamine impurities in human medicinal products. EMA/409815/2020 Rev.11.
- EMA, 2022b. Nitrosamine impurities.
- European Union, 2006. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs.
- IPEC Federation, 2022. The Role of Excipients in Determining N-Nitrosamine Risks for Drug Products.
- Lin, J.-K., 1990. Nitrosamines as potential environmental carcinogens in man. *Clin. Biochem.* 23, 67–71.
- Mergens, W.J., 1982. Efficacy of vitamin E to prevent nitrosamine formation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 393, 61–69.
- Nanda, K.K., Tignor, S., Clancy, J., Marota, M.J., Allain, L.R., D’Addio, S.M., 2021. Inhibition of N-nitrosamine formation in drug products: a model study. *J. Pharm. Sci.* 110, 3773–3775.
- Poulsen, K.P., Rubin, J., 1985. Drying of foods with flue gas from natural gas risk/benefit, in: *Drying’85*. Springer, pp. 308–311.
- Sen, N.P., 2018. Formation and occurrence of nitrosamines in food. *Diet, Nutr. Cancer A Crit. Eval.* 135–160.
- US FDA, 2021. Control of Nitrosamine Impurities in Human Drugs: Guidance for Industry. *Cent. Drug Eval. Res.* Silver Spring, MD, USA.
- Wang, Q.-H., Yu, L.-J., Liu, Y., Lin, L., Lu, R., Zhu, J., He, L., Lu, Z.-L., 2017. Methods for the detection and determination of nitrite and nitrate: A review. *Talanta* 165, 709–720.
- Wu, Y., Levons, J., Narang, A.S., Raghavan, K., Rao, V.M., 2011. Reactive impurities in excipients: profiling, identification and mitigation of drug–excipient incompatibility. *Aaps Pharmscitech* 12, 1248–1263.
- Ziebarth, D., Scheunig, G., 1976. Effects of some inhibitors on the nitrosation of drugs in human gastric juice. *IARC Sci. Publ.* 279–290.



## DFE Pharma sales offices

### Head Office

Klever Strasse 187  
P.O. Box 20 2120  
47568 Goch  
Germany  
T. +49 2823 9288 770  
F. +49 2823 9288 7799  
pharma@dfepharma.com

### Japan

Taiyo Seimei Bldg. 14F  
2-16-2, Konan, Minato-ku, Tokyo  
108-0075 Japan  
T. +81 3 6260 0740  
F. +81 3 6260 0754

### Brazil

Rua Fradique Coutinho, 30 - sala 61  
05416-000 São Paulo SP Brazil  
T. +55 11 2395 1700

### India

Plot No. 148  
Prestige Featherlite Tech Park  
2nd Phase, EPIP Zone  
Whitefield, Bangalore 560066  
India  
T. +91 80 4925 6100  
F. +91 80 4925 6150

### North America

61 South Paramus Road  
Suite 535  
Paramus, NJ 07652  
USA  
T. +1 551 497 7355  
F. +1 551 497 7358

### Singapore

3 Temasek Avenue  
#11-01 Centennial Tower  
Singapore 039190  
T. +65 6580 8100  
F. +65 6580 8191

### China

Room 302  
No. 68 Bohang Road  
Pudong Shanghai  
China  
T. +86 21 6134 5821  
F. +86 21 6134 5800

To learn more about how DFE Pharma can help you to mitigate nitrosamines related risk, please contact **Alberto Berardi**: [alberto.berardi@dfepharma.com](mailto:alberto.berardi@dfepharma.com).

[dfepharma.com](http://dfepharma.com)

### DFE Pharma GmbH & Co. KG

The details given here are merely intended for information purposes and are in no way legally binding. Consequently we accept no responsibility in the broadest sense of the word for damage that may result from applications based upon this information. Furthermore, this information does not constitute permission to infringe patent and licence rights.