

氏名(生年月日) ^の ^{むら} ^{しん} ^{きち}
野村信吉 (1979年6月15日)

学位の種類 博士(薬学)

学位記番号 博薬第198号

学位授与の日付 2020年9月30日

学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当

学位論文題目 液液抽出法を用いたデルゴシチニブ中の微量ベンゼンの分離濃縮と高速液体クロマトグラフィー法による定量分析への展開

論文審査委員 (主査) 教授 武上 茂彦

(副査) 教授 安井 裕之

(副査) 教授 山本 昌

論文内容の要旨

序章

高品質の医薬品を世界市場に向けて供給するため、製薬企業の CMC 部門は医薬品の製造工程のリスク評価を詳細に行い、予期されるリスクをコントロールすることで、品質劣化による医薬品の欠品等の潜在的なリスクを未然に回避するという取り組みを行っている。そのリスク評価を実施する上で、製薬企業が最も重要視しているのが、製造工程内における不純物に関する知見である。製造工程内で毒性のある不純物の存在の可能性が確認された場合、分析担当者はその個々の不純物について、所有する分析機器を用いて、適切な感度を有した汎用性と実用性の高い分析法を開発し、不純物の残留量を評価する必要がある。

ベンゼンは多様な化学製品の原材料として使用されており、微量不純物として医薬品中に残留する可能性が極めて高い。ベンゼンの分析法については、米国薬局方 (USP) 及び欧州薬局方 (EP) にてヘッドスペースガスクロマトグラフィーによる分析法 (USP/EP 法) が提案されているが、マトリックス効果によるベンゼンの定量妨害が認められることもあり、全ての医薬品に適用できるわけではない。

本研究では、ガスクロマトグラフィーよりも汎用性の高い紫外吸光検出器を備えた高速液体クロマトグラフィー (HPLC-UV) を用いて、デルゴシチニブ中の微量ベンゼンの定量分析法を確立することを目的とした。そこで分析前処理として、強酸性及び強塩基性水溶液を用いた液液抽出法に着目し、デルゴシチニブから微量ベンゼンの効率的な分離濃縮を可能にする抽出条件を探索した。次いで、抽出した微量ベンゼンを HPLC-UV 法を用いて定量し、その結果から液液抽出-HPLC-UV 法の微量ベンゼン分析法としての妥当性を評価した。また、USP/EP 法と比較することで本法の有用性についても検証した。

第1章 デルゴシチニブ中の微量ベンゼンの効率的な分離濃縮を可能にする液液抽出法の検討及び液液抽出-HPLC-UV 法の妥当性の評価

一般に、医薬品中のベンゼンは微量しか存在しないので、HPLC-UV 法で微量ベンゼンを感度よく定量分析するためには、微量ベンゼンの分離濃縮を目的とした分析前処理が必要となる。分析前処理

には固相抽出を用いるのが一般的であるが、操作が煩雑であることから、本研究では分析前処理として、簡便な液液抽出法に着目した。ベンゼンは水と有機溶媒で液液抽出をすると有機層に分配されることから、デルゴシチニブを水層に分配することができれば、有機溶媒へ微量ベンゼンを効率よく分離濃縮でき、かつ試料溶液中のデルゴシチニブによる微量ベンゼンの定量妨害（マトリックス効果）の回避も期待できる。しかし、HPLC-UV 法を用いて微量ベンゼンを定量するためには、デルゴシチニブを水溶液に高濃度で溶解させる必要がある。通常、定量対象物質が分解される可能性のある強酸性及び強塩基性水溶液を、試料を溶解する溶媒として使用することはないが、本研究では、デルゴシチニブを 0.5 g/mL 以上の高濃度で溶解可能な 6 mol/L 塩酸及び 8 mol/L 水酸化カリウム水溶液を用いた。一方、有機溶媒には、*n*-ヘキサン、ジクロロエーテル、クロロホルム及び酢酸エチルを用いた。これらの組み合わせについて、水溶液 5 mL に対し有機溶媒 1 mL の割合で液液抽出を実施した。微量ベンゼンの添加回収率を指標としたスクリーニングの結果、いずれの水溶液においても、有機溶媒に *n*-ヘキサンを使用すると、微量ベンゼンを 98.2~99.4%と効率よく抽出可能であった。以上より、分析前処理として強酸性及び強塩基性水溶液による液液抽出法を用いれば、微量ベンゼンを安定かつ効率的に分離濃縮できることが示された。次いで、デルゴシチニブ中の微量ベンゼンの分析法として液液抽出-HPLC-UV 法が妥当であるかを評価するため、「分析法バリデーションに関するテキスト(実施項目)について」に沿って分析法バリデーションを実施した。HPLC の条件として、移動相は水とアセトニトリル、カラムはオクタデシルシリル化 (ODS) カラムを設定した。本法を用いて得られた結果から、特異性、真度、併行精度、定量限界、検出限界及び直線性について検証したところ、ベンゼンの添加回収率 (95.0~98.4%) やその相対標準偏差 (1.2~2.9%)、直線性 (相関係数: 1.00) 等において良好な結果が得られ、微量ベンゼンの定量分析法として本法を用いることの妥当性が確認された。

第2章 米国薬局方 (USP) 及び欧州薬局方 (EP) で提案されている微量ベンゼンの分析法との比較

第1章で開発した液液抽出-HPLC-UV 法の有用性を検証するため、0.1、0.5、2 ppm 相当の微量ベンゼンを含む *n*-ヘキサン溶液を調製し、本法と USP/EP 法から得られた結果を比較、検討した。その結果、本法は USP/EP 法よりも高い感度を有し、医薬品中の微量ベンゼンの許容限度値である 2 ppm を大きく下回る 0.1 ppm の微量ベンゼンを検出可能であった。また、両法とも試料溶液及び標準溶液の調製に要する時間は変わらないものの、本法の分析時間は USP/EP 法の 1/3 以下であった。以上より、本法は USP/EP 法と比較して、一般的な製薬関連工場でも試験実施可能な汎用性、実用性及び有用性の高い分析法であることが実証された。

総括

本研究では、デルゴシチニブ中に残留している可能性があり、毒性の強い不純物として知られている微量ベンゼンについて、分析前処理として強酸性及び強塩基性水溶液による液液抽出法を組み合わせた液液抽出-HPLC-UV を用いて感度よく定量分析する方法を開発し、USP/EP 法と比較することで、その分析法の有用性についても確認した。本法を他の医薬品中の微量ベンゼンの定量分析に適用するには、医薬品を高濃度 (約 0.1 g/mL) で水溶液に溶解させる必要がある。しかし、多くの医薬品は、酸性又は塩基性の官能基を 1 つ以上有しており、今回提案した強酸性及び強塩基性水溶液に高濃度に溶解できると考えられる。したがって、本法は広範な医薬品中に残留している微量ベンゼンの定量分析に適用可能である。また、ベンゼンは多様な化学製品の原材料として使用されていることから、本法は製薬業界のみならず、他業界においても採用可能な発展性の高い分析法であると期待される。

審査の結果の要旨

《緒言》

近年、製薬企業においては高品質の医薬品を世界市場に向けて供給するために、医薬品のリスクアセスメントの重要性が高まっている。ベンゼンは、多様な化学製品の原材料として使用されており、微量の毒性不純物として医薬品中に残留する可能性が高い溶媒である。一般的に、医薬品中の微量ベンゼンの定量法として、米国薬局方 (USP) や欧州薬局方 (EP) にて、ヘッドスペースガスクロマトグラフィーによる分析法 (USP/EP 法) が提唱されているが、医薬品自身のマトリックス効果によりベンゼンが定量できないといった問題点があり、すべての医薬品に適用できるわけではない。本研究では、デルゴシチニブ中の微量ベンゼンの効率的な分離濃縮を可能とする、強酸性及び強塩基性の水系溶媒を用いた 1 ステップ液液抽出法を検討し、1 ステップ液液抽出法と紫外可視吸光検出器を備えた高速液体クロマトグラフィーを組み合わせた微量ベンゼンの新規定量法 (液液抽出-HPLC-UV 法) の確立を試みた。また、本法と USP/EP 法を比較し、本法の有用性についても検討した。

《審査結果の要旨》

第1章 デルゴシチニブ中の微量ベンゼンの効率的な分離濃縮を可能にする液液抽出法の検討及び液液抽出-HPLC-UV 法の妥当性の評価

一般に分析対象物質であるベンゼンは医薬品中に微量しか存在しないので、医薬品試料から微量ベンゼンを効率的に分離濃縮するための分析前処理が必要となる。申請者はベンゼンが加水分解されにくい化合物であることに着目し、デルゴシチニブを高濃度で溶解させることができる強酸性水溶液 (6 mol/L 塩酸) 及び強塩基性水溶液 (8 mol/L 水酸化カリウム水溶液) を選択した。これらの水溶液と種々の有機溶媒との組み合わせについて液液抽出を実施した結果、ベンゼンの比誘電率 (2.27、25°C) と値が近い *n*-ヘキサン (1.88、25°C) において、1 回の分液操作でベンゼンの抽出率が 98.2~99.4%であった。また、デルゴシチニブは *n*-ヘキサン層にほとんど存在しないことから、デルゴシチニブのマトリックス効果による微量ベンゼンの定量妨害も回避できることが示された。この結果より、分析前処理として強酸性及び強塩基性水溶液による液液抽出法を用いれば、1 ステップでもデルゴシチニブ中から微量ベンゼンを安定かつ効率的に分離濃縮できることを明らかにした。次いで、デルゴシチニブ中の微量ベンゼンの定量分析法として液液抽出-HPLC-UV 法の妥当性を評価するため、分析法バリデーションを実施した。その結果、特異性、真度、併行精度、定量限界、検出限界、相関係数のすべての項目において良好な値が得られ、微量ベンゼンの定量分析法として液液抽出-HPLC-UV 法の妥当性を実証することができた。

第2章 米国薬局方 (USP) 及び欧州薬局方 (EP) で提案されている微量ベンゼンの分析法との比較

微量ベンゼン定量法として、第1章で開発した液液抽出-HPLC-UV 法の有用性を明らかにするため、一般的な定量法として提唱されている USP/EP 法と比較した。その結果、液液抽出-HPLC-UV 法は 0.1 ppm の微量ベンゼンを再現性良く検出可能であり、USP/EP 法よりも高い感度を有していることが示された。また、液液抽出-HPLC-UV 法はデルゴシチニブだけでなく、アセチルサリチル酸、スクシニルスルファチアゾール、リドカイン、アテノロール中の微量ベンゼンの定量分析にも適用可能であることが確認された。この結果より、酸性・塩基性医薬品を問わず、幅広い医薬品中の微量ベンゼンの定量分析に液液抽出-HPLC-UV 法が適用可能であることを示した。

《審査の結論》

申請者は、医薬品中の微量ベンゼンの定量分析法として、分析前処理に強酸性及び強塩基性水溶液を用いた 1 ステップ液液抽出を組み合わせた液液抽出-HPLC-UV 法を開発した。液液抽出-HPLC-UV 法はデルゴンチニブだけでなく、広範な医薬品中の微量ベンゼンの定量分析に適用可能である。申請者が開発した液液抽出-HPLC-UV 法は、医薬品製造工程におけるリスクアセスメントに大きく貢献できる新規の分析手法であると考えられる。

学位論文とその基礎となる報文の内容を審査した結果、本論文は博士（薬学）の学位論文としての価値を有するものと判断する。