

## 医薬品に含まれる元素不純物の分析方法 (基礎編)

製剤中には、原薬や添加剤、合成時の触媒や反応容器などから元素不純物が混入するケースが考えられる。安全安心な医薬品が求められていることから、これらの潜在的元素不純物の評価は、製薬業界にとって重要な課題となる。

医薬品に含まれる元素不純物の管理については、厚生労働省医薬品局より発出された元素不純物ガイドラインが平成 29 年 4 月 1 日以降に承認申請された新規医薬品に対して適用されており、医薬品規制調和国際会議の元素不純物ガイドライン(ICH-Q3D)において、元素不純物の各成分に関して一日の許容曝露量(PDE 値)が設定されている。また、第十七改正日本薬局方第二追補の一般試験法に「元素不純物試験法」が収載され、今後、一定の猶予期間を設けた上、ICH-Q3D を踏まえた管理規定が第十八改正日本薬局方に措置される予定であることが示されている。

元素不純物試験法には分析手法として、誘導結合プラズマ発光分光法(ICP-AES)又は、誘導結合プラズマ質量分析法(ICP-MS)が適用可能と記載されている。とりわけ、高感度分析が可能な ICP-MS が第一候補として利用されることが見込まれる。また、試料の前処理においては、揮発性元素の揮散を防ぐことができる密閉系前処理法であるマイクロ波酸分解法が推奨されている。

ここでは、当センターが所有する質量分析計(7900 ICP-MS、アジレント社製)及びマイクロ波試料前処理装置(Multiwave PRO、Anton Paar)を用いて、製剤中の元素不純物分析に関する基礎的な手順について説明する。試料は、当センターで作製した錠剤をモデル製剤とする。Q3D ガイドラインでのオプション 1 が選択された場合を例とし、その際の元素不純物の許容濃度を表 1 に示す。

表 1 オプション 1 選択時の元素不純物許容濃度

元素	Li	V	Cr	Co	Ni	Cu	As	Se	Mo	Ru	Rh	Pd
製剤中の許容濃度 [ng/g]	55,000	10,000	1,100,000	5,000	20,000	300,000	1,500	15,000	300,000	10,000	10,000	10,000
元素	Ag	Cd	Sn	Sb	Ba	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb
製剤中の許容濃度 [ng/g]	15,000	500	600,000	120,000	140,000	10,000	10,000	100,000	10,000	3,000	800	500

### 【使用装置】

誘導結合プラズマ質量分析計 Agilent 7900 ICP-MS

マイクロ波試料前処理装置 Anton Paar Multiwave PRO

図1のフローチャートに示すように、製剤中の金属量を ICP-MS で測定するには、試料を分解する条件と目的元素を正確に測定するための条件を検討する必要がある。まず、試料前処理方法について記載する。

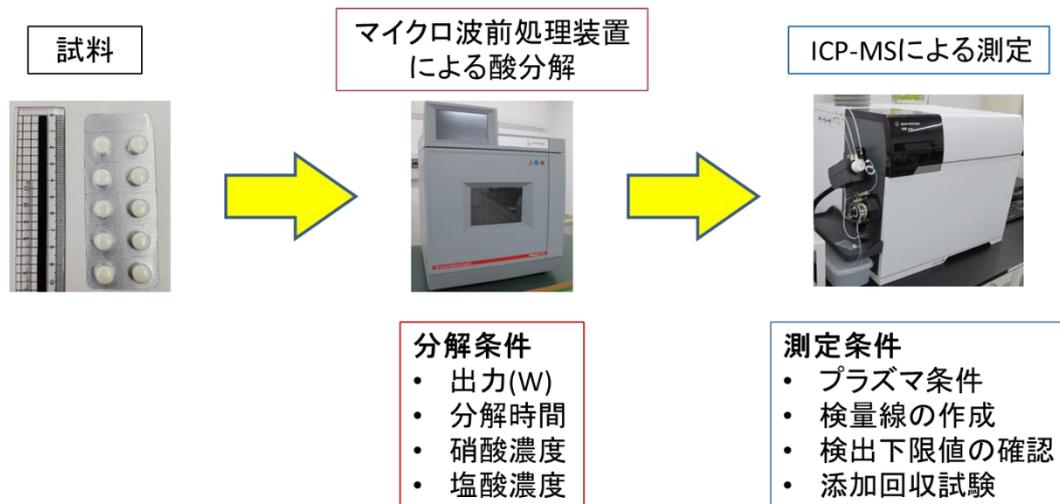


図1 ICP-MS 測定のプロフローチャート

### 【試料溶液の調製】

ICP-MS での測定では、有機物を全て分解した酸溶液の状態を試料を導入するため、錠剤などの固体試料は前処理にて、酸溶液中に分解する必要がある。試料の前処理にはマイクロ波試料前処理装置を用い、酸を加えマイクロ波を照射することにより分解する。当センターで作製したモデル製剤の成分を図2に示す。



1錠あたり約0.3g

### 【成分】

- D-マンニトール-----77%
- 結晶セルロース-----10%
- コーンスターチ-----7%
- アスコルビン酸-----3%
- スクラロース-----0.07%
- 黄色4号-----0.003%
- ヒドロキシプロピルセルロース-----3%

図2 当センターにて作製したモデル製剤

汎用的なマイクロ波酸分解では、硝酸を加えることで、有機化合物を式①に示す反応で分解することができる。また、塩酸を添加することで Hg などの元素は安定化させることができるため、分解液に塩酸も添加する。

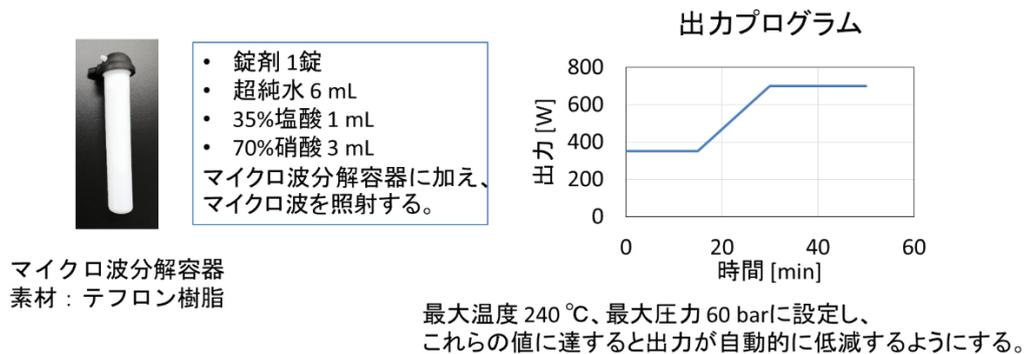


図 3 マイクロ波酸分解条件

図 3 に示すように、マイクロ波分解容器にモデル製剤を 1 錠、超純水 6 mL、35%塩酸 1 mL、70%硝酸 3 mL の順で加える。(※酸濃度が徐々に高くなるように必要な試薬を加える)。分解容器を装置にセットし、出力プログラムを作成後、マイクロ波を照射する。今回の出力プログラムは、①350 W で 15 分間キープ→②700 W まで 15 分間で上昇→③700 W で 20 分間キープ→④50°C まで冷却とする。マイクロ波照射時の分解容器の温度は、最大で 240°C まで上昇しているため、冷却には 20 分間程必要となる。

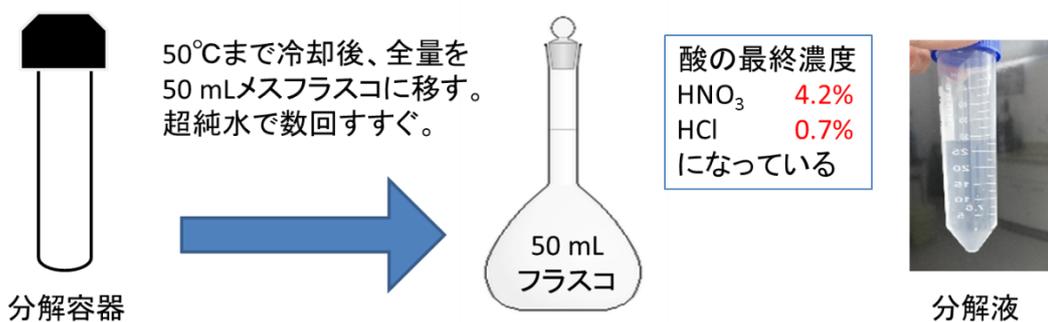


図 4 分解液の希釈方法

分解容器から分解液をメスフラスコに移す(図 4)。分解容器内に分解液が残らないように、超純水で数回すすぎ、洗液もメスフラスコに移す。後のデータ解析時に正確な定量結果を算出するために、メスフラスコの使用が望ましい。この際、ガラス製のメスフ

ラスコでは、金属成分がメスフラスコから溶出することがあるため、樹脂製のメスフラスコを使用する。今回は 50 mL メスフラスコを使用しており、その場合の硝酸及び塩酸の終濃度は、それぞれ 4.2%及び 0.7%になる。

#### 【標準溶液の調製】

試料の前処理が完了したら、ICP-MS 測定用の標準溶液の調製と測定メソッドの作成を行う。使用する標準原液を表 2 に示す。金属が安定して溶解できるように酸を添加して標準溶液を調製する。※試料をマイクロ波分解にて酸処理した場合は、試料に含まれる酸の終濃度に合わせる。今回の場合、硝酸 4.2%、塩酸 0.7%となる。

表 2 標準原液 (Q3D ガイドライン対応)

標準原液	濃度	含有元素
SPEX製 XSTC-2071	30,000 ppb	Ir, Os, Pd, Pt, Rh, Ru
SPEX製 XSTC-2072	30,000 ppb	Hg, Au
SPEX製 XSTC-2073	30,000 ppb	Ag, Ba, Co, Cr, Cu, Li, Mo, Ni, Sb, Se, Sn, V
	15,000 ppb	As
	5,000 ppb	Cd, Pb, Tl

今回は Q3D ガイドラインに該当の元素が混合された標準原液を用い(表 2)、表 3 のように、濃度の異なる 6 のレベルの標準溶液を調製する。レベル 4, 5, 6 は原液を希釈し、レベル 2, 3 はレベル 6 を希釈して調製する。レベル 1 は、ブランクなので酸のみを加える。詳細な調製方法は図 5 に示す。今回は、25 mL メスフラスコを用いて標準溶液の調製を行った。メスフラスコは試料希釈時と同様に樹脂製を使用する。

表 3 検量線レベル

元素	レベル					
	1	2	3	4	5	6
Cd, Pb, Tl	0	0.25	1.5	5	15	25
As	0	0.75	4.5	15	45	75
上記以外の元素	0	1.5	9	30	90	150

表中の単位  
濃度[ppb]

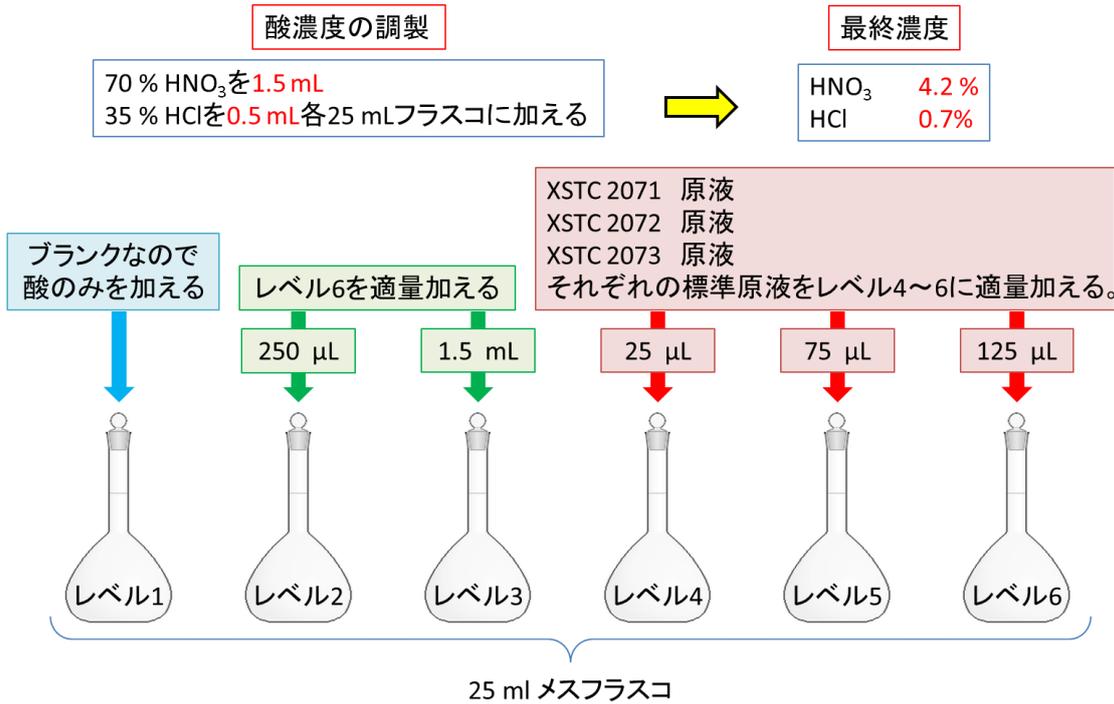


図5 標準溶液の調製方法

【内標準溶液の調製】

【内標準原液】

含有元素
25,000 ppb: Te
10,000 ppb: Sc
5,000 ppb: Ge, In, Lu, Bi

100倍希釈



内標準原液を250 μL  
HNO<sub>3</sub>: 1.5 mL  
HCl: 0.5 mL加える



酸濃度

HNO<sub>3</sub> 4.2 %  
HCl 0.7 %

図6 内標準溶液の調製方法

内標準溶液の元素は、測定元素に含まれていない元素を使用する。酸濃度は、サンプル及び標準溶液と同濃度になるように調製する(図6)。内標準溶液は、別の独立したラインから供給され、途中でサンプルライ

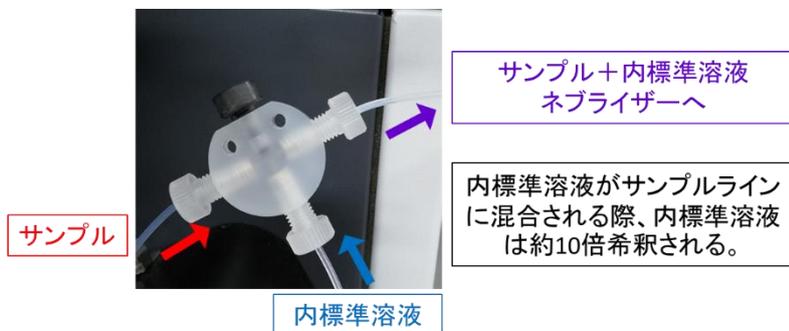


図7 内標準溶液の導入ライン

ンに導入される。サンプルラインにオンラインで混合される際に、内標準溶液は、約 10 倍希釈される(図 7)。内標準溶液の濃度は、プラズマに導入された時、5~100 ppb 程度になるように調製する。今回の場合では、まず内標準原液を 100 倍希釈し、オンラインで供給するため、プラズマ部での濃度は、Te: 25 ppb, Sc: 10 ppb, Ge, In, Lu, Bi: 5 ppb となる。

【測定】

試料溶液と標準溶液の調製が完了したら、測定を行う。測定の流れは、「装置の立ち上げ(プラズマ点火)→測定メソッドの作成→標準溶液の測定→試料溶液の測定→プラズマ消火」となる。立ち上げ作業には 30 分間、測定には(標準溶液の数+試料溶液の数)×3 分間、プラズマ消火には 10 分間ほど必要となる。

サンプル		7 Li [He]	51 V [He]	52 Cr [He]	59 Co [He]	60 Ni [He]	63 Cu [He]	75 As [He]	78 Se [H2]
タイプ	レベル	濃度 [ppb]	濃度 [ppb]	濃度 [ppb]	濃度 [ppb]	濃度 [ppb]	濃度 [ppb]	濃度 [ppb]	濃度 [ppb]
CalBlk	1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
CalStd	2	1.534	1.429	1.530	1.436	1.484	1.438	0.737	1.442
CalStd	3	9.865	8.995	9.176	9.132	9.200	9.110	4.591	8.847
CalStd	4	32.466	29.556	30.077	31.025	29.990	30.082	15.074	29.954
CalStd	5	91.308	91.791	91.752	91.010	89.426	90.979	45.241	88.879
CalStd	6	148.670	149.015	148.923	149.182	150.334	149.390	74.835	150.691
Sample		0.001	0.042	0.004	0.004	<0.000	<0.000	0.006	0.057
Sample		0.003	0.063	0.019	0.013	0.017	<0.000	<0.000	0.021
Sample		0.002	0.053	0.005	0.001	<0.000	<0.000	<0.000	0.009
Sample		<0.000	0.006	0.085	0.001	0.029	<0.000	<0.000	0.016
Sample		<0.000	0.059	0.009	0.000	<0.000	<0.000	<0.000	0.007
Sample		0.077	0.079	2.106	0.026	1.167	0.143	<0.000	0.001
Sample		<0.000	0.002	0.058	0.001	0.001	<0.000	0.014	0.005

図 8 測定結果

図 8 の測定結果に示すように、低濃度の標準溶液から順に測定を行う。設定した標準溶液の測定(今回はレベル 1~6)が完了すると、検量線が作成される(図 9)。検量線は、設定した元素ごとに作成され、その後の試料溶液の測定結果が、検量線から算出される。

※検量線の情報を確認する。

R-----相関係数

DL-----検出限界

BEC---バックグラウンド相当

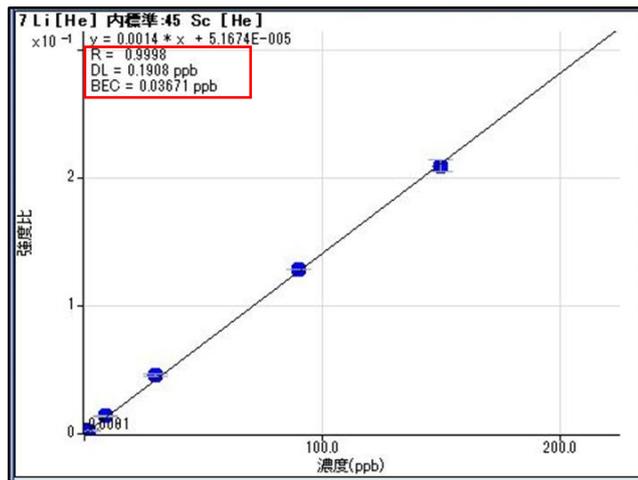


図 9 <sup>7</sup>Li の検量線

【解析】

測定結果(図 8)の数値の単位は ppb (=ng/mL)である。試料溶液の測定結果は、製剤の分解液を希釈した溶液の濃度であることに注意して解析を行う。今回は製剤の分解液を 50 mL メスフラスコで希釈したため、まず、測定結果に全体積の 50 mL を掛ける。すると、製剤中に含有されていた金属の絶対量(ng)が算出される。表 1 で示した Q3D ガイドラインの PDE 値と比較するためには、さらに、錠剤中の金属濃度(ng/g)に変換する必要がある。今回用いた錠剤の重量は 0.3 g であるため、製剤中の金属の絶対量を 0.3 g で割ると金属濃度(ng/g)が算出される。表 4 に解析結果を示す。

表 4 解析結果

元素	Li	V	Cr	Co	Ni	Cu	As	Se	Mo	Ru	Rh	Pd
試料溶液中の金属濃度 [ppb]	0.08	0.08	2.11	0.03	1.17	0.14	0.00	0.00	0.07	0.56	0.01	0.00
元素	Ag	Cd	Sn	Sb	Ba	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb
試料溶液中の金属濃度 [ppb]	0.01	0.01	0.01	0.00	0.10	0.47	0.01	0.00	0.21	0.66	0.03	0.06



【試料溶液中の金属濃度】 → 【製剤中の金属濃度】に換算 (× 50 ml ÷ 0.3 gを実施)

元素	Li	V	Cr	Co	Ni	Cu	As	Se	Mo	Ru	Rh	Pd
製剤中の金属濃度 [ng/g]	12.78	13.10	351.06	4.38	194.48	23.90	0.00	0.25	11.34	93.10	0.93	0.55
元素	Ag	Cd	Sn	Sb	Ba	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb
製剤中の金属濃度 [ng/g]	1.48	0.86	1.01	0.68	17.33	78.18	1.22	0.09	34.26	109.59	4.98	10.39

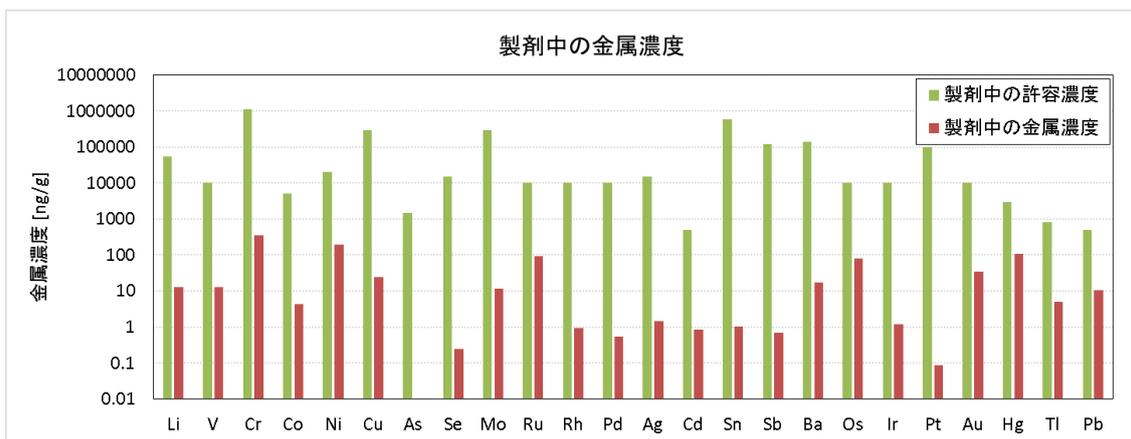


図 10 製剤中の金属濃度と許容濃度の比較

今回測定した製剤中の金属濃度と許容濃度を比較したグラフを図 10 に示す。解析結果より、製剤中に含有される Q3D ガイドライン該当元素は、許容濃度以下であることがわかる。

注意：本実験マニュアルは研究用であり、公的な試験方法を示すものではありません

【試薬】

硝酸 電子工業用 70% 富士フィルム和光 製品番号 143-09741

→ マイクロ波分解、標準溶液の調製、内標準溶液の調製に使用。

塩酸 電子工業用 35% 富士フィルム和光 製品番号 087-10361

→ マイクロ波分解、標準溶液の調製、内標準溶液の調製に使用。

超純水 超純水装置 Milli-Q Direct 8/16 MILLIPORE

→ 標準溶液、内標準溶液、試料溶液調製時に使用。

チューニング液 Li, Mg, Y, Ce, Tl, Co; 1 µg/L(=ppb); 2% HNO<sub>3</sub> Agilent 製品番号 5185-5959

→ 装置立ち上げ時と測定前のチューニング時に使用。

標準原液 XSTC 2071, 2072, 2073 SPEX

→ 3種類の標準原液を混合して使用。

内標準原液 Pharma Internal Standard 1 Agilent 製品番号 5190-9770

→ 100倍希釈して使用。

【装置内容】

マイクロ波試料前処理装置 Multiwave PRO Anton Paar

- ローター 8NXF100 → 最大8検体まで、同時に分解が可能。
- 分解容器 NXF100 材質 PTFE-TFM → 最大温度 260°C、制御圧力 60 bar

誘導結合プラズマ質量分析計 Agilent 7900 ICP-MS

- インテグレートオートサンブラ (I-AS) → 89 検体まで設置可能。
- ネブライザ、スプレーチャンバ、トーチ → 全て石英製を使用。
- コリジョン/リアクションガス → Se のみ H<sub>2</sub> モード。それ以外は He モード。
- マスフィルタ → 四重極マスフィルタを使用。
- ソフト MassHunter → ICP-MS の操作、データ解析に使用。

【ICP-MS 測定条件】

- プラズマモード → 低マトリックス
- RF パワー → 1550 W
- サンプリング位置 → 8.0 mm
- ネブライザガス → 1.01 L/min
- メーカーアップガス → 0.00 L/min
- オプションガス → 0%
- 補助ガス → 0.90 L/min
- プラズマガス → 15.0 L/min
- ネブライザポンプ → 0.10 rps
- スプレーチャンバ温度 → 2°C
- H<sub>2</sub> 流量 → 6.0 mL/min
- He 流量 → 4.3 mL/min
- サンプリングコーン → Ni
- スキマーコーン → Ni