

ICP-MSを用いた元素不純物分析の基礎的検討

高山信幸, 米田哲也, 竹林憲司, 小笠原勝, 薬事研究会分析部会

Basic study on the analysis of elemental impurities using inductivity coupled plasma mass spectrometry

TAKAYAMA N, YONEDA T, TAKEBAYASHI K, OGASAWARA M,
The Chemical Analysis Study Group in Toyama Pharmaceutical Research Association

要 約

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重要な課題となる。

誘導結合プラズマ質量分析計(ICP-MS)は、ppb(=ng/mL)レベルまでの元素成分を測定することができる。また、マイクロ波分解装置では、密閉状態で化合物を分解することができ、揮発性金属の飛散を抑止することができる。本研究では、ICP-MSを用いて元素不純物の検出下限値の評価や添加回収試験を実施し、得られた測定値が医薬品規制調和国際会議(ICH)で定められた適合基準を満たしていることを確認した。また、当センターで調製したモデル製剤を用いて、製剤中の元素不純物分析における、汎用的な測定方法とサンプル分解法の確立を行った。

Summary

In some cases, various kinds of elemental impurities can be contaminated in drug products under pharmaceutical production. In order to meet the safety and security requirements, the establishment of the analytical methods for elemental impurities is an important issue.

The inductivity coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) can determine the extremely low level metal concentrations. The microwave digestion system can decompose compounds in closed vessels, which enables to avoid the loss of volatile elements. In this study, we validated the analytical methods of elemental impurities by ICP-MS and verified the measured values met the criteria defined in the ICH by testing the detection limits and spike recoveries. We also analyzed elemental impurities in model drugs which we were prepared, and established the versatile method of a sample digestion followed by the analysis of elemental impurities.

キーワード：医薬品, 元素不純物, 誘導結合プラズマ質量分析計, マイクロ波分解

Key words : drug, impurity element, inductivity coupled plasma mass spectrometry, microwave decomposition

緒 言

医薬品の品質評価において、人体に有害である金属成分の正確な分析は必須である。厚生労働省医薬品局より発行された「医薬品の元素不純物ガイドラインについて」では、平成29年4月1日以降に承認申請される新医薬品に対して医薬品規制調和国際会議(ICH)で検討された元素不純物ガイドラインICH-Q3Dが適用されることとなり、元素不純物の各成分の一日の許容曝露量(PDE値)が設定されている(表1)。今後はさらにその規制が強化されていく可能性も考えられる。

誘導結合プラズマ質量分析計(inductivity coupled plasma mass spectrometry: ICP-MS)は、非常に高感

度な分析が可能であるため、医薬品中の金属分析に適している。ICP-MSでは、水溶液の状態サンプルを導入するため、錠剤などの固形サンプルはマイクロ波分解装置を用いて、水溶液中に分解する必要がある。薬事研究会分析部会では、これらの装置を用いて医薬品中の金属成分を正確かつ安定的に分析できる包括的な手法を確立した。

試験方法及び結果

①検出下限値の評価

本検討では、ICP-MSがQ3Dガイドラインに規定されている元素の濃度を評価するのに十分な性能を持っているかを確認した。試験方法はブランク溶液を10回

表1. Q3Dにおけるオプション1の元素不純物許容濃度。一日用量が10 g以下の製剤中の元素不純物量を評価するためにオプション1が選択された場合には、これらの濃度限度値を用いることができる。

元素	クラス	経口製剤の濃度 μg/g	注射剤の濃度 μg/g	吸入剤の濃度 μg/g
Cd	1	0.5	0.2	0.2
Pb	1	0.5	0.5	0.5
As	1	1.5	1.5	0.2
Hg	1	3	0.3	0.1
Co	2A	5	0.5	0.3
V	2A	10	1	0.1
Ni	2A	20	2	0.5
Tl	2B	0.8	0.8	0.8
Au	2B	10	10	0.1
Pd	2B	10	1	0.1
Ir	2B	10	1	0.1
Os	2B	10	1	0.1
Rh	2B	10	1	0.1
Ru	2B	10	1	0.1
Se	2B	15	8	13
Ag	2B	15	1	0.7
Pt	2B	10	1	0.1
Li	3	55	25	2.5
Sb	3	120	9	2
Ba	3	140	70	30
Mo	3	300	150	1
Cu	3	300	30	3
Sn	3	600	60	6
Cr	3	1100	110	0.3

表2 標準原液の組成

使用標準原液	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

表3 内標準原液の組成

金属元素	濃度 (ppb)
Te	25,000
Sc	10,000
Ge, In, Lu, Bi	5,000

表4 ICP-MSの検出下限値

元 素	Li	V	Cr	Co	Ni	Cu	As	Se	Mo	Ru	Rh	Pd
許容1日曝露量の10%量 (ppb) 経口製剤	5500	1000	110000	500	2000	30000	150	1500	30000	1000	1000	1000
許容1日曝露量の10%量 (ppb) 吸入剤	250	10	30	30	50	300	20	1300	100	10	10	10
ICP-MSの検出下限値 (ppb)	0.131	0.021	0.017	0.004	0.010	0.023	0.023	0.066	0.111	0.002	0.018	0.006
ICP-MSの検出下限値 (ppb) ^{a)}	0.655	0.105	0.085	0.020	0.050	0.115	0.115	0.330	0.555	0.010	0.090	0.030

元 素	Ag	Cd	Sn	Sb	Ba	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb
許容1日曝露量の10%量 (ppb) 経口製剤	1500	50	60000	12000	14000	1000	1000	10000	1000	300	80	50
許容1日曝露量の10%量 (ppb) 吸入剤	70	20	600	200	3000	10	10	10	10	10	80	50
ICP-MSの検出下限値 (ppb)	0.012	0.001	0.013	0.007	0.003	1.190	0.052	0.002	2.737	0.729	0.171	0.005
ICP-MSの検出下限値 (ppb) ^{a)}	0.060	0.005	0.065	0.035	0.015	5.950	0.260	0.010	13.685	3.645	0.855	0.025

a) 製剤中濃度に換算したICP-MSの検出下限値 (1日投与量10 gの製剤を本試験方法で測定した場合)

測定し、その標準偏差を3倍した値を検出下限値とし、各元素のそれぞれの検出下限値を算出した¹⁾。

性能の評価については、PMDAの「製剤中の元素不純物の管理」をもとにPDE値の30%を管理閾値として設定し、さらに機器の測定誤差を考慮してPDE値の10%が正確に測定できることを目安として設定した。また、剤型については、後述のモデル製剤として用いる経口製剤及び管理値が最も厳格な吸入剤を想定していた。

標準溶液の調製

標準原液（表2）を超純水で希釈し、酸の最終濃度が硝酸4.0%、塩酸0.5%となるように調製した。

ブランク溶液の調製

酸の最終濃度が硝酸4.0%、塩酸0.5%となるように調製した。

内標準溶液の調製

内標準原液（表3）を超純水で100倍希釈し、酸の最終濃度が硝酸4.0%、塩酸0.5%となるように調製した。

結 果

1日投与量10 gの経口製剤を想定した場合、すべての元素において、Q3Dガイドラインで規定されたPDE値の10%以下の検出下限値となり、本装置は経口製剤中の金属含量の測定に対して、十分な測定能力を持つことが明らかとなった（表4）。

1日投与量10 gの吸入剤を想定した場合、AuにおいてはQ3Dで規定されたPDE値の10%に対して十分な測定能力を持つとは言えない結果となったが、Auには測定時にキャリーオーバーの影響が認められたため、正しく評価した場合にはより精密な測定能力が得られると思われる。

②コーンスターチ中の金属含量測定及びマイクロ波照射後の添加回収試験

ICP-MSでは、粘性のある試料や完全分解していない試料を測定する場合、イオン化の際に噴霧部の汚染、試料の噴霧がバラつく等の不具合を生じてしまう。そのため、そのような試料は液体に完全分解させるための前処理が必要となる。本検討では、医薬品の賦形剤として一般的に使用されているコーンスターチをマイクロ波試料前処理装置（アントンパール社製）で酸分解し、実際にICP-MSでの測定が可能かを確認した。また、マイクロ波照射後の添加回収試験も同時に行った。

試料の調製

マイクロ波分解容器にコーンスターチ0.1 gを入れ、超純水3 mL、70%硝酸溶液3 mL、30%過酸化水素水1 mLを加えた。以下に示した条件でマイクロ波分解を行った。35%塩酸1 mLを加え、超純水で希釈して50 mLとした。また、ブランク溶液及び添加回収試験溶液も同様の方法で調製した。

○マイクロ波分解の条件

1. 350Wで20分間マイクロ波照射
2. 15分間で700Wまでマイクロ波の出力上昇
3. 700Wで35分間マイクロ波照射

標準溶液の調製

標準原液を超純水で希釈し、酸の最終濃度が硝酸4.2%、塩酸0.7%、過酸化水素0.6%となるように調製した。

内標準溶液の調製

内標準原液を超純水で100倍希釈し、酸の最終濃度が硝酸4.2%、塩酸0.7%、過酸化水素0.6%となるように調製した。

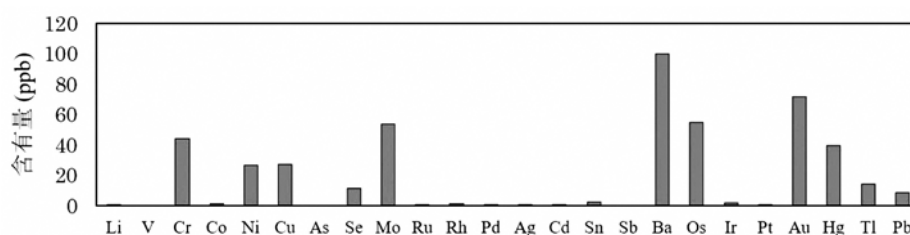


図1 コーンスターチ中の金属含量

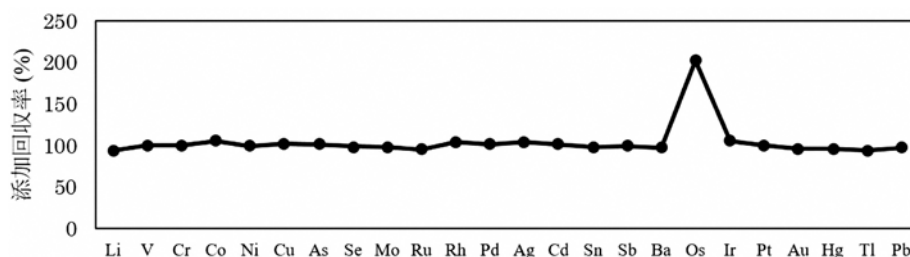


図2 添加回収試験（マイクロ波照射検体）

結 果

マイクロ波照射後のコーンスターチ中の金属元素を測定した結果、Au及びHgのキャリアオーバーが確認されたが、それ以外の金属元素においては問題なく測定ができた（図1）。また、添加回収試験の結果、ほとんどの元素で回収率100%前後を示したが、オスミウムにおいては回収率が200%となり、添加量よりも高い値を示した（図2）。

③オスミウムの高感度分析の検討

上記の添加回収試験の結果、オスミウムの過剰評価が確認された。これについては、サンプルをマイクロ波処理した際に、オスミウムがより揮発性の高い四酸化オスミウムとなり、オスミウムが過剰にイオン化されたことが原因と考えられた²⁾。そこで、四酸化オスミウムをオスミウムに還元するという目的で、マイクロ波照射後に還元剤溶液を添加し、測定を行った。

還元剤溶液①の調製

チオ尿素0.05 gに超純水50 mLを加えて溶かした。

還元剤溶液②の調製

アスコルビン酸0.1 gに超純水50 mLを加えて溶かした。

還元剤溶液③の調製

チオ尿素0.05 g及びアスコルビン酸0.1 gに超純水50 mLを加えて溶かした。

試料の調製

マイクロ波分解容器に標準原液を添加し、超純水3 mL、70%硝酸溶液3 mL、30%過酸化水素水1 mLを加えた。以下に示した条件でマイクロ波分解を行い、還元剤溶液①～③で希釈して50 mLとした。

標準溶液の調製

標準原液を超純水で希釈し、酸の最終濃度が硝酸

4.2%、過酸化水素0.6%となるように調製した。

内標準溶液の調製

内標準原液を超純水で100倍希釈し、酸の最終濃度が硝酸4.2%、過酸化水素0.6%となるように調製した。

結 果

還元剤溶液の添加により、オスミウムを約7割の回収率で測定することができた（表5）。また、還元剤の種類や組み合わせによる回収率の変化は認められなかった。このことから、オスミウムの測定において、還元剤の添加が有効であることが明らかとなった。

④モデル製剤の金属含量測定

金属を予め添加した錠剤サンプル（表6）に対して、金属元素の測定を行い、そのデータから実際の金属添加量を算出できるかを試験した。試験方法については、上記の検討結果を基に設定した。

試料の調製

マイクロ波分解容器に金属含有錠剤サンプルを入れ、超純水6 mL、70%硝酸溶液3 mL、35%塩酸溶液1 mLを加えた。以下に示した条件でマイクロ波分解を行い、還元剤溶液（チオ尿素1 g/L）で希釈して50 mLとした。また、金属を添加していない錠剤サンプルについても同様の方法で調製した。

○マイクロ波分解の条件

1. 350Wで15分間マイクロ波照射
2. 15分間で700Wまでマイクロ波の出力上昇
3. 700Wで20分間マイクロ波照射

標準溶液の調製

Table 7に示した濃度となるように標準原液を希釈し、酸の最終濃度が硝酸4.2%、塩酸0.7%となるように

表5 オスミウムの回収率

還元剤溶液	還元剤溶液① (チオ尿素)	還元剤溶液② (アスコルビン酸)	還元剤溶液③ (チオ尿素+アスコルビン酸)	水
Osの回収率 (%)	77	78	74	200

表6 錠剤サンプルの成分組成（1錠あたり 約0.3 g）

成分名	成分比率(%)
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

表7 標準溶液の元素濃度

元 素	レベル 単位【ppb】						
	1	2	3	4	5	6	7
Cd, Pb, Tl	0	0.25	1.5	5	15	25	50
As	0	0.75	4.5	15	45	75	150
上記以外の元素	0	1.5	9	30	90	150	300

調製した。

内標準溶液の調製

内標準原液を超純水で100倍希釈し、酸の最終濃度が硝酸4.2%、塩酸0.7%となるように調製した。

測定時の留意点

コリジョンリアクションセルに充填するガスはセレンの測定時のみ水素を用い、それ以外の元素の測定時にはヘリウムを用いた³⁾。また、Au及びHgにおいてはキャリアオーバーが確認されているため、試料の測定の前に洗浄目的でブランク溶液の測定を行った。

結 果

金属含有錠剤サンプルの測定値から錠剤サンプルの測定値を引き、添加された金属量を算出した(図3)。結果、添加した金属量とほぼ同等の値で検出することができ、回収率は100%前後であった(図4)。

考 察

ICP-MSでの測定の最適化を行い、ICH Q3Dガイドラインで規定された金属元素を100%前後の回収率で測定することができた。オスミウムの測定において、還元剤の添加が有効であることも明らかとなった。Au及びHgのキャリアオーバーにおいてはブランク溶液での洗浄で対応したが、一度に多くのサンプルを測る必要がある場合、洗浄を入れるとサンプル数及

び測定時間は倍となってしまうため、Au及びHgキャリアオーバーについては対策の検討が必要になると考えられる。

参考文献

- 1) 上本道久：検出限界と定量下限の考え方，ぶんせき，5，216~221（2010）
- 2) International Labour Organization：Chemical Properties and Toxicity, Osmium, Encyclopaedia of occupational health and safety, 9, ジュネーブ（2011）
- 3) Peter, H. and Ed, M.：オクタポールリアクションセルICP-MSによる迅速で信頼性の高い尿のルーチン分析, Agilent Technologies, USA,（2005）

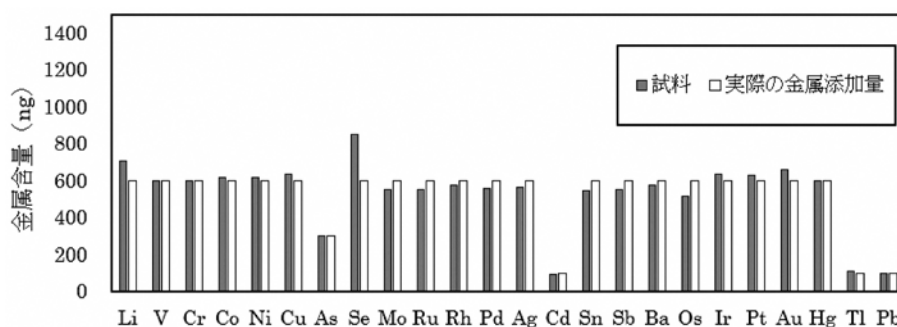


図3 金属含有錠剤サンプル中の金属含量

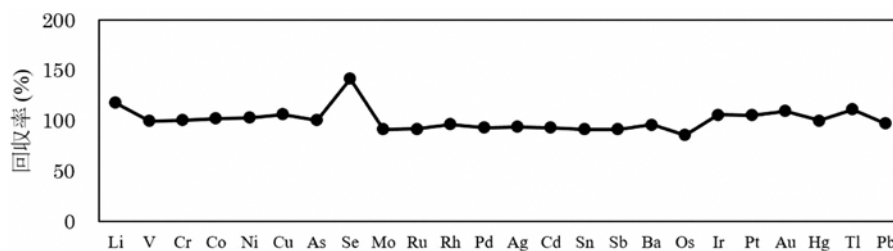


図4 金属含有錠剤サンプルの回収率