

ICP-MSを用いた元素不純物分析の基礎的検討（第2報）

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

A basic study on the analysis of elemental impurities using inductivity coupled plasma mass spectrometry (the Second report)

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。マイクロ波分解装置では、密閉状態で化合物を分解するため、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測定における塩酸の添加の必要性やマイクロ波による試料前処理の影響を評価した。また、Os元素の測定における高精度な分析方法の確立を行った。汎用的な分解方法では分解できない製剤に関しては、フッ化水素酸を添加することで分解することができた。フッ化水素酸を使用した場合において、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。

Summary

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 evaluated the necessity of adding hydrochloric acid for ICP-MS measurements and the effects of the microwave digestion for sample preparation. In addition, we validated an analytical method to accurately determine the Os. Regarding drugs that were not digested by our standard digestion method, adding hydrofluoric acid was found to be effective in achieving their complete digestion. In this case, we carried out the spike recovery tests of some elements required for ICH-Q3D and verified that the measured values met the criteria defined in the ICH.

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る「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た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が適用されており、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）¹⁾。また令和3年6月公示の第十八改正日本薬局方には、日本薬局方の製剤は原則として一般試験法の元素不純物試験法

<2.66>に係る規定に従って適切に管理する旨の記載が通則に盛り込まれている。さらに今後、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の医薬品各条に措置される予定であることも示されている²⁾。

誘導結合プラズマ質量分析計（inductivity coupled plasma mass spectrometry: ICP-MS）は、非常に高精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、水溶液の状態で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。富山県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³⁾.

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10g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

試験方法及び結果

① 水銀の安定化

ICP-MSの測定では、標準溶液や試料溶液の調製時に、金属を安定化するために、酸を添加する必要がある。特にHgやAu, Ptなどの金属は王水にしか溶解しないため、硝酸・塩酸の添加が望ましい。Hgの安定性の検討として、硝酸のみが添加されているHg標準溶液（A社）と硝酸・塩酸が添加されているHg標準溶液（B社）のそれぞれを用いて、検量線を作成した。表2に検量線の濃度範囲を示す。各検量線のレベルにおける硝酸濃度は2.8%となるように硝酸を添加した。A社の標準溶液では、相関係数は0.9925となった。適切にバリデーションされた場合、相関係数は0.999以上となることが多く、硝酸・塩酸が添加されているB社は、相関係数が0.9995と良好な値を示した（図1）。これにより、Hgを正確に定量するためには、塩酸を添加する必要があると分かった。

② 試料のマイクロ波分解の必要性

内服液剤中の金属濃度を測定する場合、製剤を水に溶解させるだけで、試料溶液を調製することができる。しかし、この場合、製剤中に含まれる有機物が、プラズマ部での金属のイオン化に影響を及ぼすため、マイクロ波処理により、製剤中の有機異物を無機物にまで完全に分解することが推奨されている⁴⁾。そこで、試料のマイクロ波分解の必要性を確認するため、X社の内服液剤を用い、希釀しただけの試料溶液とマイクロ波処理を施した試料溶液の両方で添加回収試験を実施した（図2）。添加回収試験用の試料溶液は、表3に示す元素が1,000倍希釀となるように添加した。また、測定の際には、表4に示される内標準溶液を100倍に希釀して用いた。内標準液の酸の終濃度が、硝酸4.2%，塩酸0.7%となるように調製した。

○試料溶液の調製方法

希釀のみによる調製：内服液剤を0.5 mL量り、25 mLメスフラスコに加えた。そこに、表3に示される

表2 検量線の濃度範囲

	検量線レベル					
	1	2	3	4	5	6
A社	0 ppb	1.5 ppb	9 ppb	30 ppb	90 ppb	150 ppb
B社	0 ppb	1.5 ppb	9 ppb	30 ppb	90 ppb	150 ppb

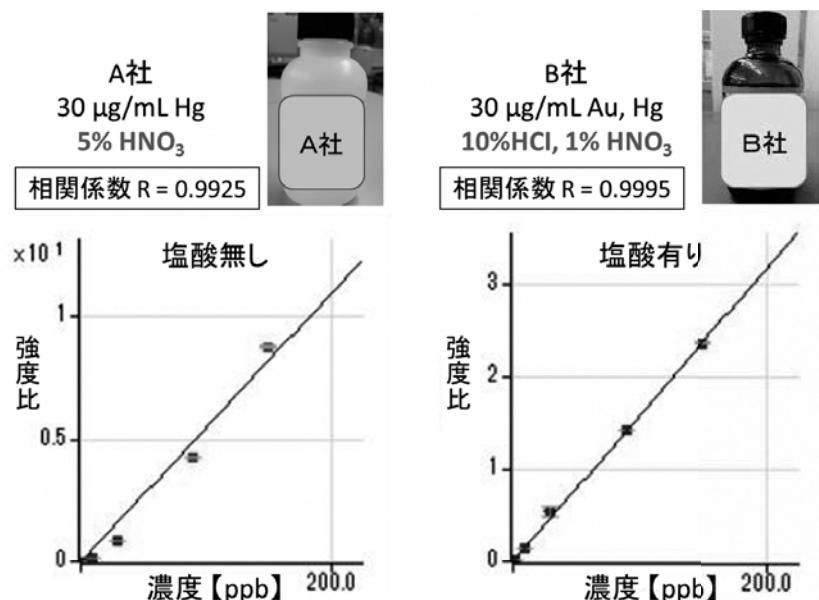


図1 A社とB社の標準溶液を用いた際の検量線の比較

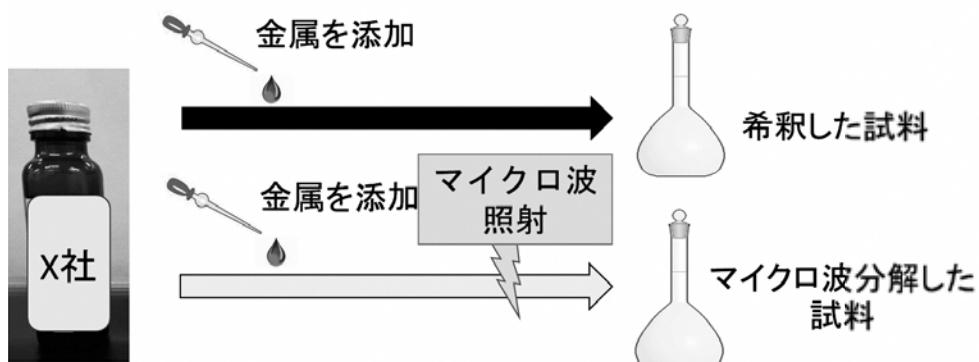


図2 添加回収試験用の試料溶液の調製方法

表3 標準溶液の組成

使用標準原液	含有元素
SPEX製 XSTC-2071	30000 ppb : Ir, Os, Pd, Pt, Rh, Ru
SPEX製 XSTC-2072	30000 ppb : Hg, Au
SPEX製 XSTC-2073	30000 ppb : Ag, Ba, Co, Cr, Cu, Li, Mo, Ni, Sb, Se, Sn, V 15000 ppb : As 5000 ppb : Cd, Pb, Tl

表4 内標準溶液の組成

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

各標準溶液を25 μL 加えた。さらに、35%塩酸0.5 mLと70%硝酸1.5 mLを加え、超純水でメスアップした。塩酸及び硝酸の終濃度は、それぞれ、0.7%，4.2%となる。

マイクロ波分解による調製：マイクロ波分解容器に、内服液剤1 mL、超純水5 mL、35%塩酸1 mL、70%硝酸3 mL、表3に示される各標準溶液を50 μL の順に加え、下記の分解条件により、マイクロ波分解を行った。分解後、分解液を50 mLメスフラスコに移し、超純水により、メスアップを行った。塩酸及び硝酸の終濃度は、それぞれ、0.7%，4.2%となる。

○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
4. 50 $^{\circ}\text{C}$ まで冷却（約30分間）

添加回収試験の結果を図3に示す。添加回収試験の適合基準は70%~150%である。内服製剤を希釈しただけの場合、As及びSeの回収率がそれぞれ152%，192%となり、適合基準外となった。これに対し、マイクロ波処理を施した際の添加回収試験では、すべての金属において回収率は約100%を示した。このことから、精度の高い分析を行うためには、製剤中の有機物をマイクロ波分解することが必要であることが確認できた。

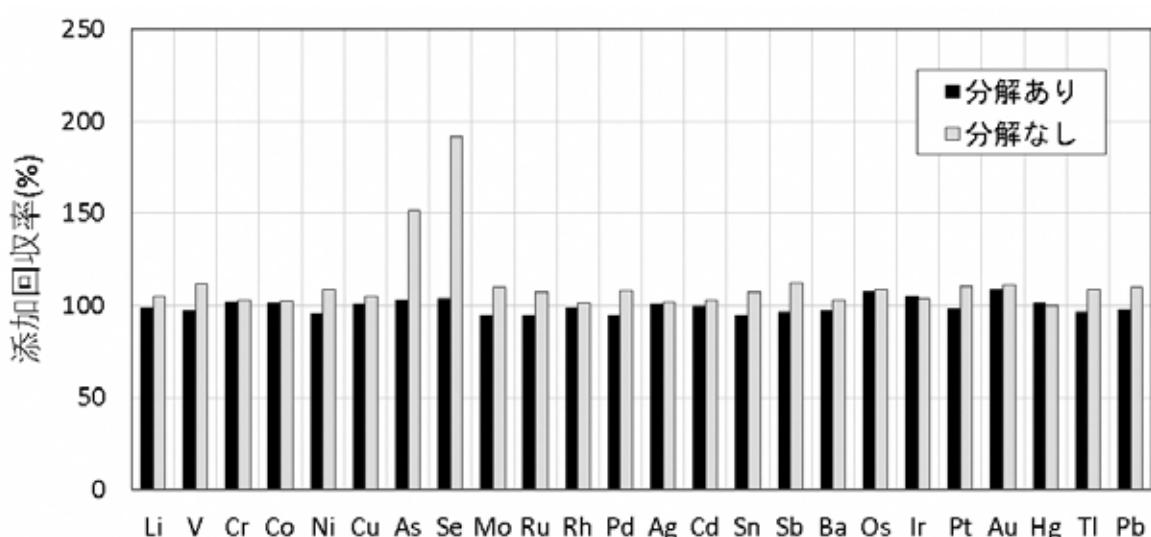


図3 内服液剤の添加回収試験結果

③ オスミウムの高精度分析の検討

Q3Dガイドラインに該当する元素の一つであるOsは、添加回収率が70~150%に収まらず、過大評価されることが報告されており、当センターにおいても散見される（図4）^{3,5)}。これまでの報告によると、マイクロ波分解中にOsが揮発性の高いOsO₄となり、ICP-MS中で過剰にイオン化されたためであると推測されており、チオ尿素を添加することで、Osの測定が安定化できると報告されている⁵⁾。そこで、オスミ

ウムの高精度分析の検討として、マイクロ波で試料を分解した後に、チオ尿素を添加し、Osの添加回収試験を実施した。その際、チオ尿素の添加濃度を1.0~0.01 g/Lの範囲とし、添加濃度の違いによる影響も評価した。添加回収試験の結果を表5に示す。結果は、チオ尿素の添加量が1.0 g/L~0.01 g/Lの範囲において、適合基準である70%付近となった。これは、チオ尿素が、Osと錯体を形成し、安定化することで、過剰なイオン化を抑制することが出来たと考えられる。

回収率が100%とならず70%台となってしまった原因として、チオ尿素を添加するまでの間にOsが揮散した可能性が考えられる。そのため、今後は、試薬調製

を迅速に行うことや、Osを安定化させるためのその他に試薬の探索など、より高精度な分析方法の検討が必要と考えられる。

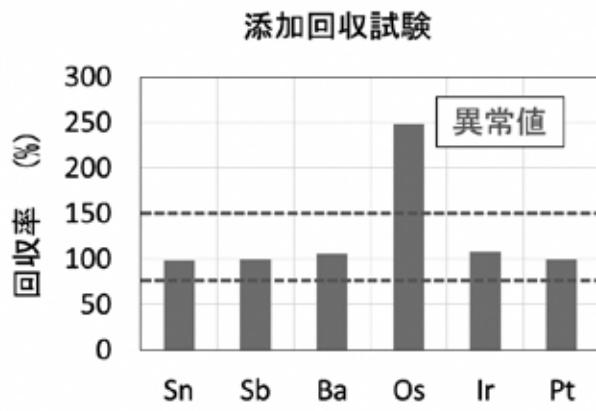


図4 Osの過大評価例

表5 チオ尿素を添加した際のOsの添加回収率

	チオ尿素の添加濃度			
	1.0 g/L	0.1 g/L	0.01 g/L	0
Os回収率	72%	76%	71%	251%

④ フッ化水素酸添加の必要性

当センターでは、製剤のマイクロ波分解において、汎用的な分解液である硝酸・塩酸のみでは、製剤を完全分解できないケースを度々経験している。一例を示すと、高血圧症の治療薬のアゼルニジピン錠16 mgは、汎用的なメソッドで分解すると、図5（左）のような未分解成分が確認される。原因について検討した結果、添加物として使用されている軽質無水ケイ酸が未分解であるためと推察された。そこで、フッ化水素酸を用いた分解条件について検討を行った。マイクロ

波分解容器に製剤を粉碎せずに投入し、超純水6 mL、塩酸1 mL、硝酸3 mL、フッ化水素酸0.1 mLを加え、マイクロ波分解処理を行った。マイクロ波の出力プログラムは、これまでと同様とした。分解処理液を確認したところ、図5（右）のように未分解成分は、確認されなかった。このことから、フッ化水素酸を添加することで、未分解成分を分解できることが分かった。

フッ化水素酸を添加することで、分解できたアゼルニジピン錠16 mg中の金属濃度の測定及び添加回収試験を下記の手順により実施した。

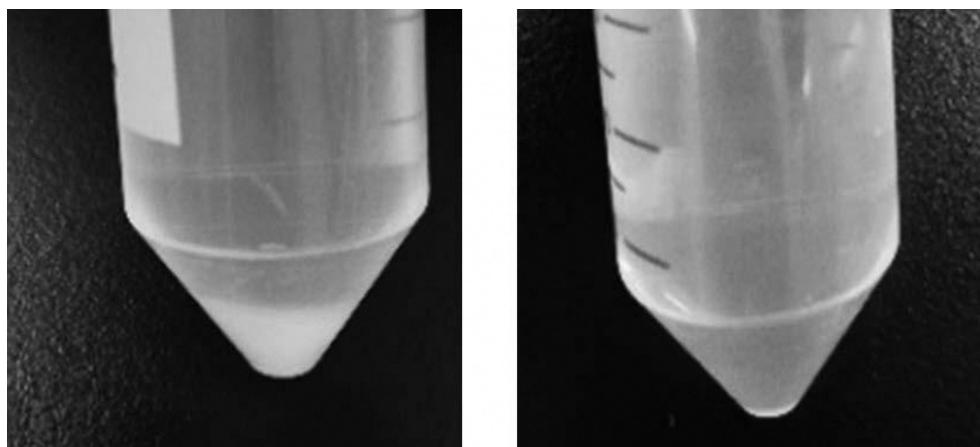


図5 (左) 汎用的メソッドによるアゼルニジピン錠の分解
(右) フッ化水素酸添加によるアゼルニジピン錠の分解

標準溶液の調製

表6の標準溶液を超純水で希釈し、表7の各濃度となるように調製した。酸の終濃度は、硝酸4.2%，塩酸0.7%となるように調製した。

内標準溶液の調製

表4の内標準溶液を超純水で100倍希釈し、酸の終濃度が硝酸4.2%，塩酸0.7%となるように調製した。

表6 標準溶液の組成

使用標準原液	含有元素
アジレント製 ICH/USP Oral Target Elements Standard A	5,000 ppb : Cd, Pb 15,000 ppb : As 30,000 ppb : Hg
アジレント製 ICH/USP Oral Target Elements Standard B	8,000 ppb : Ti 50,000 ppb : Co 100,000 ppb : V 150,000 ppb : Ag, Se 200,000 ppb : Ni
アジレント製 ICH/USP Oral Target Elements Standard C	100,000 ppb : Au, Ir, Os, Pd, Pt, Rh, Ru
アジレント製 ICH/USP Oral Target Elements Standard D	550,000 ppb : Li 120,000 ppb : Sb 140,000 ppb : Ba 3,000,000 ppb : Cu, Mo 6,000,000 ppb : Sn 11,000,000 ppb : Cr

表7 検量線の各レベルにおける濃度

元素	レベル 単位【ppm】				
	レベル 1	レベル 2	レベル 3	レベル 4	レベル 5
Li	0	0.22	0.44	0.66	1.1
V	0	0.04	0.08	0.12	0.2
Cr	0	4.4	8.8	13.2	22
Co	0	0.02	0.04	0.06	0.1
Ni	0	0.08	0.16	0.24	0.4
Cu	0	1.2	2.4	3.6	6
As	0	0.006	0.012	0.018	0.03
Se	0	0.06	0.12	0.18	0.3
Mo	0	1.2	2.4	3.6	6
Ru	0	0.04	0.08	0.12	0.2
Rh	0	0.04	0.08	0.12	0.2
Pd	0	0.04	0.08	0.12	0.2
Ag	0	0.06	0.12	0.18	0.3
Cd	0	0.002	0.004	0.006	0.01
Sn	0	2.4	4.8	7.2	12
Sb	0	0.48	0.96	1.44	2.4
Ba	0	0.56	1.12	1.68	2.8
Os	0	0.04	0.08	0.12	0.2
Ir	0	0.04	0.08	0.12	0.2
Pt	0	0.04	0.08	0.12	0.2
Au	0	0.04	0.08	0.12	0.2
Hg	0	0.012	0.024	0.036	0.06
Tl	0	0.0032	0.0064	0.0096	0.016
Pb	0	0.002	0.004	0.006	0.01

添加回収試験結果を図6に示す。フッ化水素酸を用いた場合でも、すべての元素において、添加回収試験が適合基準内であることが分かる。また、アゼルニジ

ピン錠中の金属濃度の測定結果では、すべての元素において、Q3Dガイドラインの許容濃度以下であることが分かった（図7）。

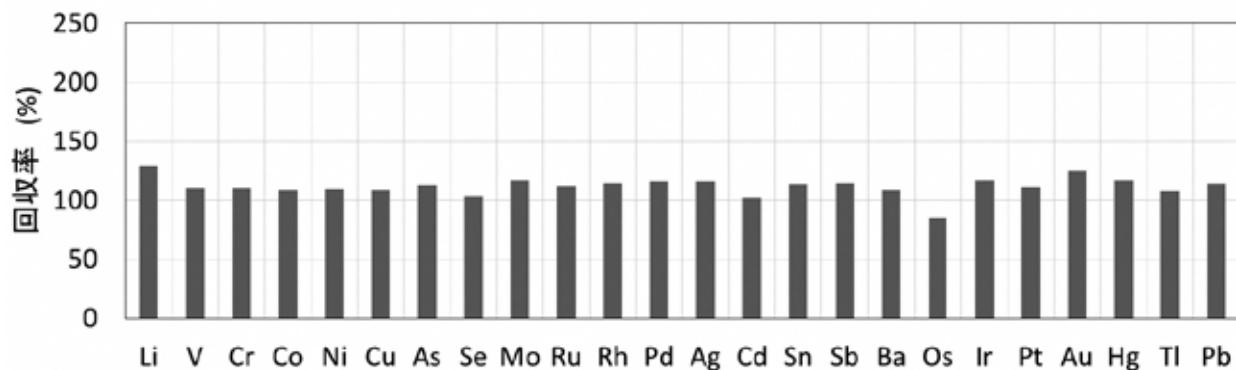


図6 添加回収試験結果

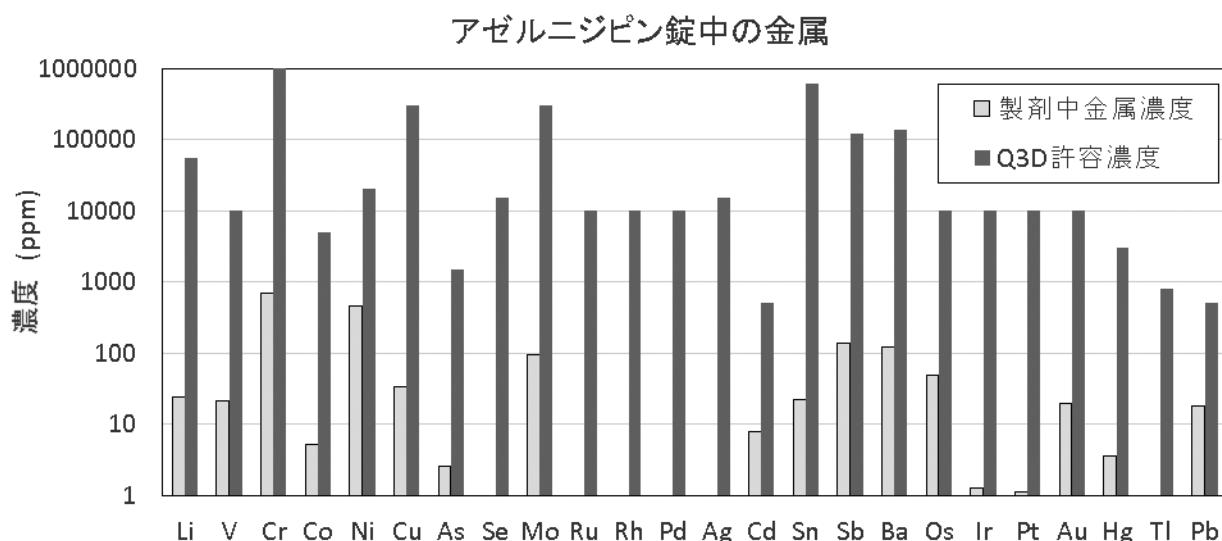


図7 アゼルニジピン錠中の金属濃度とQ3Dガイドラインの許容濃度との比較

まとめと考察

本研究では、塩酸の添加によりHgが安定すること、また、マイクロ波による試料前処理の必要性を確認した。Osの高精度分析の際には、マイクロ波分解処理後に0.01 g/Lのチオ尿素を添加することにより、Osを正確に分析できることが分かった。さらに、汎用的な分解メソッドでは分解できない製剤に関しては、フッ化水素酸を用いる事で、製剤中の有機物の分解が可能となり、かつ金属濃度を正確に測定することも可能となることが分かった。

参考文献

- 厚生労働省: 合意ガイドライン 元素不純物ガイドラインQ3D., 4版 2014
- 厚生労働省: 第十八改正日本薬局方., 2021
- 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: ICP-MSを用いた元素不純物分析の基礎的検討., 富山県薬事総合研究開発センター年報, 47 34-38 2020
- Juliano S. Barin, Bruna Tischer, Rochele S. Picoloto, Fabiane G. Antes, Fabiana E. B. da Silva, Fávero R. Paula, Érico M. M. Flores: Determination of Toxic Elements in Tricyclic Active Phar-

maceutical Ingredients by ICP-MS: A Critical Study of Digestion Methods., 29 352-358 2014

- 5) Cornel Venzago, Maximilian Popp, Jessica Kovaca, Andrea Kunkel: Pharmacopeial requirements for elemental impurities: a novel approach to the trace determination of osmium by oxidative pressure vessel sample digestion and measurement using inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) after complexation and stabilization., *J. Anal. At. Spectrom.*, 28 1125-1129 2013