

ICP-MSを用いた元素不純物分析の基礎的検討（第3報）

高山 信幸, 柚木 芳, 米田 哲也, 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 Third report)

TAKAYAMA N, YUNOI K, YONEDA T, OGASAWARA M,

The Chemical Analysis Study Group in Toyama Pharmaceutical Research Association

要 約

令和3年6月公示の第十八改正日本薬局方には、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製剤を管理する旨の記載が通則に盛り込まれた。今後、国内で販売される医薬品は一部の例外を除き、元素不純物試験法<2.66>に準拠した管理が必要となる。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、これらの潜在的元素不純物の評価は重要な課題となる。

元素不純物分析では製剤をマイクロ波分解により、溶液中に完全分解することが重要であり、硝酸・塩酸を用いた標準的な分解方法を確立した。また、無機物質を多く含む製剤については、フッ化水素酸を添加することで分解できることを見出した。しかしながら、最も分解が困難な製剤の場合、助酸化剤である過酸化水素を添加することや、分解時間を長めに設定するなどの特殊な分解メソッドが必要となる。非ステロイド性消炎・鎮痛薬であるセレコキシブ錠は標準的なメソッド及び、フッ化水素酸を用いたメソッドでも分解できない。そのため、新規の分解メソッドを構築した。また、これまで未検討であったカプセル剤のケトチフェンカプセルを用いて元素不純物試験法の限度試験を実施したので、これについて報告する。

Summary

The Japanese Pharmacopoeia 18th edition has contained the general rules that drugs should be appropriately controlled within the acceptable limits in accordance with the elemental impurity test method<2.66>. After this announcement, except for a few cases, the drugs in the market will be required to be managed under the Elemental Impurity Test Method <2.66>. Elemental impurities may be contaminated in drug substances, additives, catalysts during synthesis, reaction vessels, etc., and the evaluation of these potential elemental impurities is an important issue.

In the elemental impurity test, it is important to completely decompose the drugs into a solution by microwave decomposition method. We have established the standard decomposition method using nitric acid and hydrochloric acid in the previous studies. We also found that hydrofluoric acid was useful to decompose the drugs that contained a large amount of inorganic substances.

However, in the most difficult situation to decompose the drugs, it is necessary to establish the special decomposition method such as adding hydrogen peroxide, which is an auxiliary oxidizing agent, or setting a long decomposition time. The celecoxib tablets, that are nonsteroidal anti-inflammatory and analgesic drugs, cannot be decomposed by standard methods or using hydrofluoric acid method. Therefore, a new decomposition method was established. In addition, we report the elemental impurity test method using ketotifen capsule tablets, that have not been studied so far.

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

令和3年6月公示の第十八改正日本薬局方（以下、日局18）には、元素不純物試験法<2.66>に係る規定に従って適切に製剤を管理する旨の記載が通則に盛り込まれた¹⁾。36か月間の猶予期間を経た後、一部の例

外を除き、従来の重金属試験やヒ素試験による管理は認められず、元素不純物試験法に一本化される。

これまでの検討において、試薬調製方法や測定精度、試料の分解条件などの最適化を行い、元素不純物試験法に則った試験法を構築してきた²⁻⁵⁾。元素不純物分析では、製剤をマイクロ波分解により、溶液中に

完全分解することが重要であり，硝酸・塩酸を用いた標準的な分解方法を確立した．しかし，軽質無水ケイ酸やタルクなどの無機材料を多く含む製剤などでは，これまで行ってきた標準的な手法では分解ができないため，フッ化水素酸を添加する必要がある．さらに分解が困難な製剤の場合は，硝酸の助酸化剤である過酸化水素を加えるなどの特殊な分解メソッドの構築が必要となる⁶⁾．本研究では，セレコキシブ錠を用い，特殊な分解メソッドの構築を行った．また，これまで未検討であったカプセル剤について，ケトチフェンカプセルを例に限度試験を実施したので，これについても報告する

1 セレコキシブ錠の元素不純物分析

1. 1 セレコキシブ錠のマイクロ波分解の設定

本検討で使用したセレコキシブ錠の容量，含有成分を表1に示す．セレコキシブ錠を硝酸・塩酸を用いた

標準的な手法とフッ化水素酸を用いた手法との両方でマイクロ波分解を試みたところ，分解後の処理液に未分解物が確認された（図1）．未分解物を乾燥させて取り出し，エタノールを加えることで溶解したことから，有機化合物が残留していると考えられた．有機化合物が完全に分解しなかった場合の対処法としては，分解温度を高くし，分解時間を長くすることが挙げられる．また，硝酸の助酸化剤である過酸化水素を添加することも効果的である⁷⁾．続く検討では，マイクロ波分解時間を標準的なメソッドから，分解時間が長いメソッドに変更した．マイクロ波分解における条件を図2に示す．本検討では，図2（右）の条件で実施した．マイクロ波分解時における温度の影響を評価するため，最高温度を180℃と240℃に設定し，それぞれマイクロ波分解を実施した．分解液は，超純水3.0 mL，35 %塩酸1.0 mL，70 %硝酸3.0 mL，30%過酸化水素 2.0 mLとした．

表1. セレコキシブ錠の重量，含有成分

重量	0.36 g
含有成分	セレコキシブ 200 mg
	乳糖水和物
	低置換度ヒドロキシプロピルセルロース
	ラウリル硫酸ナトリウム
	ヒドロキシプロピルセルロース
	ステアリン酸マグネシウム
	その他

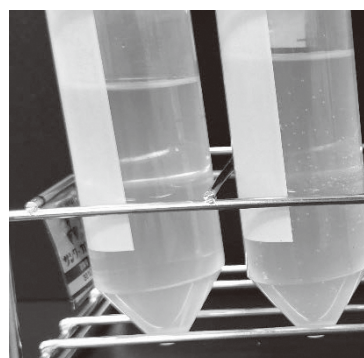
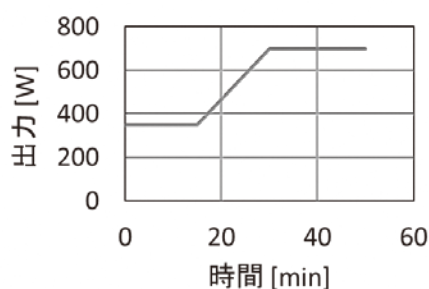
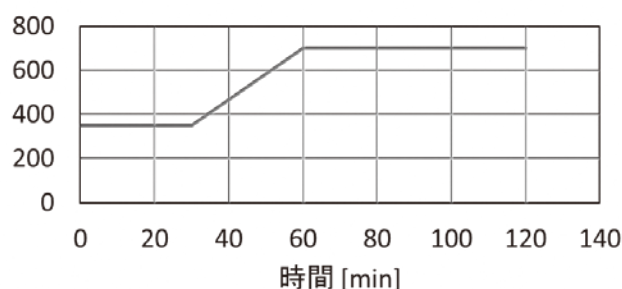


図1. セレコキシブ錠のマイクロ波分解
フッ化水素酸なし（左），フッ化水素酸あり（右）



350W 15分キープ
700W 15分かけて増加
700W 20分キープ
→50℃まで冷却(約30分間)



350W 30分キープ
700W 30分かけて増加
700W 60分キープ
→50℃まで冷却(約30分間)

図2. マイクロ波分解条件
標準的なメソッド（左），分解時間を長くしたメソッド（右）

1. 2 セレコキシブ錠のマイクロ波分解の結果

新規のマイクロ波分解メソッドでセレコキシブ錠の分解を行った結果を図3に示す。図3が示すように、分解時の最高温度が180℃までしか上昇しない設定では、分解後に未分解物が確認された。これに対し、最高温度を240℃に設定した場合は、未分解物が確認されず澄明な処理液となっており、セレコキシブ錠を分解することができた。この液を50 mLメスフラスコで定容し、試料溶液とした。また、測定精度の評価として添加回収試験を実施するため、添加回収試験用の試料溶液も同様に調製した。硝酸、塩酸、過酸化水素の最終濃度はそれぞれ4.2 %、0.7 %、1.2 %とした。

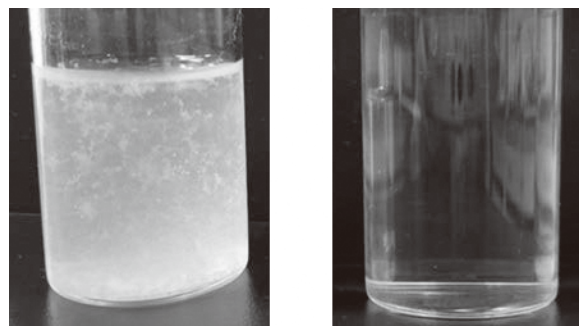


図3. セレコキシブ錠のマイクロ波分解結果
分解時最高温度180℃（左）、240℃（右）

1. 3 セレコキシブ錠の元素不純物試験の設定

1. 3. 1 標準溶液の調製

本検討では、日局18の元素不純物試験に記載されている経口製剤の許容一日曝露量（PDE）を基に、試験条件を設定した。1日投与量を10 g以下、試験に用いる試料量を0.36 g、マイクロ波分解後の処理液の最終体積を50 mLとした場合の希釈効率を考慮して、目標

限度値（J）を算出した。標準原液（表2）を各元素の最終濃度が0 J（レベル1）、0.5J（レベル2）、1 J（レベル3）、1.5J（レベル4）の4点となるように調製し、検量線を作成した（表3）。セレコキシブ錠のマイクロ波分解後の試料溶液と同濃度の酸組成及び濃度となるように硝酸、塩酸、過酸化水素を添加した。最終濃度はそれぞれ4.2 %、0.7 %、1.2 %とした。

表2. 標準原液

使用標準原液（アジレント製）	含有元素
ICH/USP Oral Target Elements Standard A	Cd, Pb: 5 ppm, As: 15 ppm, Hg: 30 ppm
ICH/USP Oral Target Elements Standard B	Tl: 8 ppm, Co: 50 ppm, V: 100 ppm, Ag, Se: 150 ppm, Ni: 200 ppm

表3. 標準溶液の濃度

クラス	元素	検量線レベル 単位（ng/mL = ppb）			
		0J（レベル1）	0.5J（レベル2）	1.0J（レベル3）	1.5J（レベル4）
1	As	0	5.4	10.8	16.2
	Cd	0	1.8	3.6	5.4
	Hg	0	10.8	21.6	32.4
	Pb	0	1.8	3.6	5.4
2A	V	0	36.0	72.0	108.0
	Co	0	18.0	36.0	54.0
	Ni	0	72.0	144.0	216.0

1. 3. 2 内標準溶液の調製

内標準原液（表4）を超純水で100倍希釈し、硝酸、塩酸、過酸化水素を添加した。最終濃度はそれぞれ4.2 %、0.7 %、1.2 %とした。

表4. 内標準原液の金属組成

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

表 5. セレコキシブ錠の元素不純物分析結果

	V	Co	Ni	As	Cd	Hg	Pb
セレコキシブ錠分解液中の金属濃度 (ng/mL)	0.00	0.01	0.35	0.01	0.01	0.12	0.05
セレコキシブ錠中の金属濃度 (ng/g)	0.00	1.39	48.61	1.39	1.39	16.67	6.94
許容濃度 (ng/g)	10,000	5,000	20,000	1,500	500	3,000	500
添加回収試験用試料測定結果 (ng/mL)	80.20	38.71	156.09	12.65	3.79	23.96	3.94
添加回収試験設定値 (ng/mL)	72.00	36.00	144.00	10.80	3.60	21.60	3.60
回収率 (%)	111	108	108	117	105	110	108

1. 4 結果と考察

セレコキシブ錠の元素不純物分析結果を表5に示す。測定結果は、セレコキシブ錠の分解液中の濃度であるため、希釈体積50 mL及び試料量0.36 gの値を用い、セレコキシブ錠中の金属濃度に変換を行った。セレコキシブ錠中の金属濃度は、許容濃度を下回っていることが確認された。添加回収試験の結果では、すべての元素で適合基準である70-150 %の範囲内で測定をすることができた。新規のマイクロ波分解メソッドにより、セレコキシブ錠の分解が達成され、元素不純物試験法に則った試験を実施することができた。

2 ケトチフェンカプセルの元素不純物分析

カプセル剤は、粉末、液体、顆粒などの医薬品成分をカプセルに充填して製造されている。カプセル本体には、ゼラチンやヒドロキシプロピルメチルセルロースなどが用いられている。カプセルそのものは無色透明であるため、酸化チタンや着色剤を添加し、不透明にすることがある。カプセル本体に多量の無機材料が使用されている場合、汎用的な分解方法では分解できない可能性がある。そこで本検討では、ケトチフェンカプセルを用い、カプセル剤のマイクロ波分解方法を構築し、元素不純物試験を実施した。ケトチフェンカプセルの重量、含有成分を表6に示す。本検討では、日局18の元素不純物試験法に記載されている限度試験を実施した。限度試験の手順は、「分析対象元素の濃度がそれぞれ1J, 0.8Jとなるように調製した添加試料溶液を調製し、添加回収試験を行う。適合基準は、添加試料溶液1（1Jで調製された試料溶液）の繰り返し測定3回の平均値が、標準溶液の繰り返し測定で得られた平均値の±15%以内である。また、添加試料溶液2（0.8Jで調製された試料溶液）の繰り返し測定の平均値は、標準溶液のシグナル強度又は値より小さな値を示す。」となっている。

表 6. ケトチフェンカプセルの重量、含有成分

重量	0.17 g
含有成分	ケトチフェンフマル酸塩 1.38 mg (ケトチフェンとして1 mg) を含有する。
	軽質無水ケイ酸
	結晶セルロース
	ステアリン酸マグネシウム
	トウモロコシデンプン乳糖 (カプセル本体)
	酸化チタン
	ゼラチン
	ラウリル硫酸ナトリウム

2. 1 ケトチフェンカプセルのマイクロ波分解の設定

マイクロ波分解容器に製剤1カプセル加え、超純水6.0 mL, 35 %塩酸1.0 mL, 70 %硝酸3.0 mL, フッ化水素酸 0.1 mLを加え、標準的なメソッド(図2 左)でマイクロ波分解を実施した。冷却後、超純水で希釈し、50 mLとした。硝酸、塩酸、フッ化水素酸の最終濃度は、それぞれ4.2 %, 0.7 %, 0.1 %となっている。また、フッ化水素酸の効果を確認するため、比較としてフッ化水素酸を加えずにマイクロ波分解も行った。限度試験用の試料溶液である添加試料溶液1と添加試料溶液2も同様の手法により、マイクロ波分解を行った。

2. 2 標準溶液の調製

本検討では、日局18の元素不純物試験に記載されている経口製剤の許容一日曝露量(PDE)を基に、試験条件を設定した。1日投与量を10 g以下、試験に用いる試料量を0.17 g、マイクロ波分解後の処理液の最終体積を50 mLとした場合の希釈効率を考慮して、目標限度値(J)を算出した。標準原液(表2)を各元素の最終濃度が0J(レベル1), 0.5J(レベル2), 1J(レベル3), 1.5J(レベル4)の4点となるように調製し、検量線を作成した(表7)。ケトチフェンカプセルのマイクロ波分解後の試料溶液と同濃度の酸組成及び濃度となるように硝酸、塩酸、フッ化水素酸を添加した。最終濃度はそれぞれ4.2 %, 0.7 %, 0.1 %とした。

2. 3 内標準溶液の調製

内標準原液（表4）を超純水で100倍希釈し、硝酸、塩酸、フッ化水素酸を添加した。最終濃度はそれぞれ4.2 %、0.7 %、0.1 %とした。

2. 4 結果と考察

マイクロ波分解後の処理液の様子を図4に示す。フッ化水素酸を加えなかった条件では、処理液中に未分解物が確認されたが、フッ化水素酸を加えた分解条件では、澄明な処理液が得られた。よって、ケトチ

フェンカプセルのマイクロ波分解では、フッ化水素酸を用いることが効果的であるとわかった。

限度試験の結果を表8に示す。標準溶液1Jの3回測定の実測値は、添加試料溶液1（1Jで調製された試料溶液）の3回測定の実測値と比較して、測定結果のずれが15%以内となっている。また、添加試料溶液2（0.8Jで調製された試料溶液）の繰り返し測定の実測値は、標準溶液の値より小さな値を示しており、限度試験の適合基準を満たすことができた。

表7. 標準溶液の濃度

クラス	元素	検量線レベル 単位 (ng/mL = ppb)			
		0J (レベル1)	0.5J (レベル2)	1.0J (レベル3)	1.5J (レベル4)
1	As	0	2.55	5.1	7.65
	Cd	0	0.85	1.7	2.55
	Hg	0	5.1	10.2	15.3
	Pb	0	0.85	1.7	2.55
2A	V	0	17	34	51
	Co	0	8.5	17	25.5
	Ni	0	34	68	102



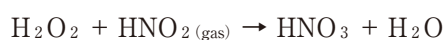
図4. ケトチフェンカプセルのマイクロ波分解
フッ化水素酸なし（左）、フッ化水素酸あり（右）

表8. ケトチフェンカプセルの限度試験結果

	V	Co	Ni	As	Cd	Hg	Pb
設定値 1J (ng/mL)	34.00	17.00	68.00	5.10	1.70	10.20	1.70
標準溶液 1J 3回測定の実測値 (ng/mL)	32.40	16.20	65.26	5.15	1.67	10.28	1.69
添加試料溶液 1J 3回測定の実測値 (ng/mL)	32.38	16.21	65.71	5.44	1.70	10.45	1.71
標準液との比較割合 (%)	100	100	101	106	101	102	101
設定値 0.8 J (ng/mL)	27.20	13.60	54.40	4.08	1.36	8.16	1.36
添加試料溶液 0.8J 3回測定の実測値 (ng/mL)	26.69	13.50	54.10	4.29	1.35	8.59	1.36
標準液との比較割合 (%)	82	83	83	83	81	84	81

3 まとめ

セレコキシブ錠の元素不純物試験においては、汎用的なマイクロ波分解のメソッド、およびフッ化水素酸を用いた分解メソッドの両方で分解を試みたが、ともに分解することができなかった。本検討で行っていたマイクロ波分解の設定では最大温度もしくは最大圧力 60 barに達すると、マイクロ波の出力が弱くなる。過去の検討では最大温度に達する前に圧力が最大に達しており、最大温度までは上がらなかった。温度を高くするためには、圧力を低く抑える必要がある。分解液である硝酸は、分解が進むと一部が亜硝酸ガスとなり、容器内の圧力が高くなっていく。そこで、過酸化水素を加えることで、亜硝酸ガスを硝酸に戻すことができる。



過酸化水素を加えたことにより、圧力の上昇が抑制されるため、最高温度を高くすることができ、かつ長い分解時間を設定することでセレコキシブ錠が分解できたと思われる。

分解時における最高温度の影響を評価するため、最高温度を180℃と設定した場合では、過酸化水素を加え、分解時間を長くしたメソッドでもセレコキシブ錠を分解することができなかった。よって、有機化合物の分解には、温度を高くし、分解時間を長くすることが効果的であると分かった。マイクロ波分解を行ったセレコキシブ錠を用いて、元素不純物試験と添加回収試験を実施し、良好な結果を得ることができた。

硬カプセルであるケトチフェンカプセルを用いた検討では、フッ化水素酸を用いることで、マイクロ波分解が可能となった。その他の硬カプセル剤であるフルコナゾールカプセル（重量 0.2 g）とアンピロキシカムカプセル（重量0.2 g）を用いて、マイクロ波分解の検討を行ったところ、同様にフッ化水素酸を添加しないと分解できなかった。一方、軟カプセル剤であるアルファカシドールカプセル（重量 0.18 g）は、フッ化水素酸を添加せずに分解することができた。硬カプセル剤は、カプセル本体に酸化チタンが使用されることが多いため、フッ化水素酸を添加しないと分解できなかったと推察される。

日局18の元素不純物試験法に記載されている限度試験を実施したところ、標準溶液 1 J の 3 回測定の平均値と、添加試料溶液 1 の 3 回測定の前値とのずれが、ほとんどなかったことから、試料中の金属分析が正確にできているとわかった。また、添加試料溶液 2（0.8 J で調製された試料溶液）の繰り返し測定の前値は、標準溶液 1 J の 3 回測定の前値の約 80% となっており、良好な試験結果を得ることができた。

参考文献

- 1) 厚生労働省: 第十八改正日本薬局方, 2021
- 2) 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
- 3) 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(第2報), 富山県薬事総合研究開発センター年報, 48 57-64 2021
- 4) 高山信幸, 米田哲也, 小木曾英夫, 小笠原勝, 薬事研究会分析部会: ICP-MSによる元素不純物試験法と重金属試験法, 及びヒ素試験法との比較検討, 富山県薬事総合研究開発センター年報, 49 42-49 2022
- 5) 高山信幸, 米田哲也, 小笠原勝, 薬事研究会分析部会: ICP-MSによる経皮吸収製剤の元素不純物試験, 富山県薬事総合研究開発センター年報, 50 38-42 2023
- 6) 高山信幸, 柚木 芳, 高津 聖志: 第十八改正日本薬局方における元素不純物試験法の設定と評価, Pharmstage, 23 55-60 2023
- 7) Muller E.I, Souza J.P, Muller C.C, Muller A.L.H, Mello P.A., Bizzi C.A: Microwave-assisted wet digestion with H_2O_2 at high temperature and pressure using single reaction chamber for elemental determination in milk powder by ICP-OES and ICP-MS., Talanta, 156, 232-238 2016