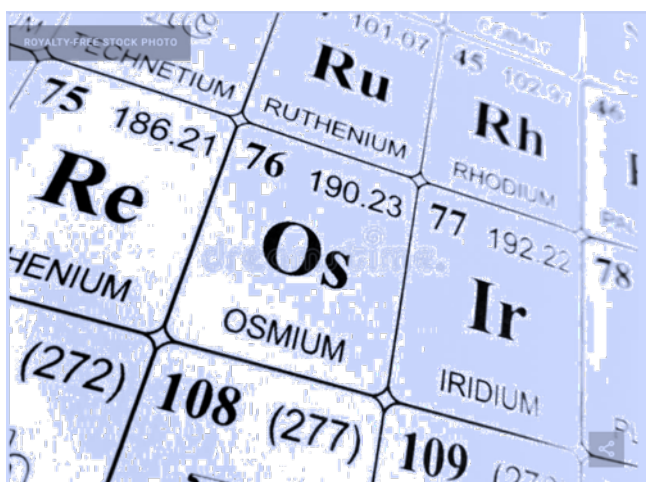


ICH Q3D、USP <232>、<233>、Ph.Eur. 5.20 に準拠した、 オスミウムの元素不純物分析のための PDC による密閉容器内分解

Multiwave 7000 を使用することで、GMP に完全準拠した条件でさまざまなサンプルマトリックスを分解でき、さらに分解液を安定化させることで、非常に測定が困難なオスミウムの正確で再現性の高い測定が可能になります。



本レポートでは、Multiwave 7000 を使用し、医薬品と有効成分のサンプル前処理時に酸化環境下で Os を安定化させるために、分解後に酢酸、アスコルビン酸、チオ尿素を含む安定化溶液で希釈しています。

2 測定機器

分解は、Rack 18、18 mL の石英製圧力密閉バイアル、15 mL の石英製密閉バイアルを使用して、Multiwave 7000 で行いました。

定量分析は、ICP-MS(Agilent 7900)で行いました。

1 はじめに

元素不純物は、患者にとって有害なリスクとなるだけでなく、医薬品の品質や有効性にも影響を及ぼす可能性があるため、その分析は医薬品の開発や品質管理において重要な役割を果たしています。

米国薬局方(USP <232>および<233>)、欧州薬局方(Ph. Eur. 5.20)、および医薬品規制調和国际会議(ICH Q3D)の新しい規制により、マイクロ波による密閉容器内分解などの信頼性の高いサンプル前処理技術と ICP-OES または ICP-MS との組み合わせは、元素不純物の定量化における最先端の技術となっています。

これらの規制では、オスミウムの日曝露許容量(PDE)も定義されています。Os は、特定の医薬品有効成分(API)の製造過程で触媒として使用されている白金族元素です。

サンプルマトリックスの分解は主に HNO₃ のような酸化性の鉱酸によって行われますが、この方法では微量 Os の測定に問題が生じます。なぜなら、揮発性の異なるさまざまな種を形成し、再び Os の制御不能な損失につながるからです。四酸化オスミウムなどは、揮発性が高いだけでなく、吸入、摂取、皮膚接触で非常に有害です。



図 1: Multiwave 7000



図 2: Rack 18 に入れられた 18 mL の石英製圧力密閉性バイアルと 15 mL の石英製密閉バイアル

3 実験

サンプルには、J レベル(サンプル前処理後の目標濃度)の 100 %で Os を添加します。分解性能は、理論値(未添加サンプル+添加値)に対する添加サンプルの回収率を算出することで評価します。すべての添加サンプルは 3 回調製します(n=3)。

3.1 サンプル

風邪シロップ

有効成分トリプル複合体と多量のアアルコール、糖、グリセリンを含む

ニコチン酸(API)

全体で 200°C 以上の温度を必要とする芳香族 API

3.2 サンプル溶液の前処理

いずれも USP<232>に記載の経口剤形の限界値を考慮しました。

経口 PDE: 100 µg/day

PDE 限界値を各製品の一日最大投与量で割り、[µg/g] 単位の目標値を算出しました。

| | 風邪シロップ | API ニコチン酸 |
|------------------|----------|--------------|
| リーフレットによる一日最大投与量 | 30 mL | 10 g *) |
| 約投与単位あたりの重量[mg] | 1120 **) | - |
| 約絶対一日最大投与量[g] | 34 | 10 |
| 目標限界値[µg/g] | 2.98 | 10.0 |

表 1: 目標限界値

*) ニコチン酸を API として含む最終製品は、10 g/day の一日最大投与量で投与されると考えられます。

**) mL あたりの大体の重量

J レベルは、各製品のサンプル重量と分解後の希釈も考慮しているため、サンプル前処理工程後の Os の濃度と同じになります。次の表は、ICP での測定のために分解した溶液を最終的に希釈する前の段階での濃度を示します。

| | 風邪シロップ | API ニコチン酸 |
|-------------|-------------------|--------------|
| サンプル重量 | 1 mL 約 1120 mg | 500 mg |
| J レベル[µg/L] | 3.34 | 5.00 |

表 2: 400 µL の分解液を

20 mL の安定化液で希釈した後の J レベル

上記の J レベルを達成するために、10 mg/L の Os 溶液のそれぞれの量を、秤量したサンプルに分解前に添加しました。各添加液は、1000 mg/L のストック溶液を重力で希釈し、2 % HCl 中で調製しました。

以下の量の試薬を使用しました。

| 試薬 | 風邪シロップ | API ニコチン酸 |
|---------------------|--------|--------------|
| H ₂ O *) | 1.4 | 1.4 |
| HNO ₃ | 3 | 5 |
| HCl **) | 1 | 1 |

表 3: 試薬の使用量

*) H₂O の量は未添加のサンプルを意味します。添加サンプルには、見合った量の水を加え、合計で同じ量になるようにしました(添加量と加えた水の量 = 1.4 mL)。

**) HCl は分解後に添加しました。

特に、室温ですでに何らかの反応を示しているサンプルについては、Os の潜在的な損失をできるだけ抑えるために、サンプル前処理手順の各ステップをできるだけ早く、次の順序で実行することを推奨します。

- サンプルの秤量
- 水の添加
- 添加溶液の添加
- HNO₃の添加
- バイアル(プラグオンキャップ)と容器(PTFE 製テープと石英製フタ)の密閉
- 3.3に従った分解の実行
- 分解後の HCl の添加
- 安定化液による希釈

風邪シロップは HNO₃ と反応して激しく発熱する傾向があるので、密閉した石英製容器を継続的に冷却しました。冷却は、酸を添加してから分解を開始するまでの間、冷水を用いて行い、密閉作業の時のみ中断しました。さらに、秤量から石英製容器の密閉までの個々のステップは、「開放状態」によって Os が失われる可能性のある時間をできる限り短くするために、各容器に対して続けて行いました。これにより、密閉した石英製容器の中で、室温下の風邪シロップの反応を完全に抑えることができました。

密閉バイアルについては、発熱反応が始まってから反応が落ち着くまで、水で風邪シロップのみを冷却しました。

各バイアルと容器を閉じて、Rack 18 に入れました。圧力密閉の石英製バイアルと密閉の石英製容器は 2 回に分けて処理しましたが、バイアルや容器の数が 18 個以下の場合、1つのラックでまとめて処理することもできます。ラックは、溶液(150 mL の水と 5 mL の HNO₃)を充填したライナーに入れました。ライナーを加圧分解チャンバー(PDC)に入れ、分解プログラムを開始しました。

実行後、1 mL の HCl を添加しました。続けて、サンプルを 50 mL チューブに移し、20 mL まで満たしました。この溶液の 400 µL は、別の 50 mL チューブで希釈し、以下の水性安定化液 20 mL にしました。

| 酢酸 | チオ尿素 | アスコルビン酸 |
|----------------|-------------------------|---------|
| 0.5 % (5 mL/L) | 0.01 mol/L (761.2 mg/L) | 0.1 g/L |

表 4: 安定化液¹

これらのサンプル溶液とすべての標準液を安定化液で希釈し、Os の最終濃度が 1 µg/L を下回るようにしました(サンプル溶液の希釈率は 1:10)。すべての溶液は、内部標準物質として Hf、Lu、Re(最終濃度: 10 µg/L)を用いて、ICP-MS で分析しました。

3.3 温度プログラム

| | |
|---------|------------|
| 開始圧力: | 65 bar |
| 最大圧力: | 160 bar |
| 冷却温度: | 50°C |
| 圧力解放速度: | 10 bar/min |

| ステップ | 時間 [min] | 温度 [°C] |
|------|----------|---------|
| 1 | 35 | 250 |
| 2 | 10 | 250 |

表 5: 温度プログラム

4 結果

回収率および相対標準偏差の結果は、USP <233>の手順検証に記載されている各限界値内に収まっています。ICP の測定液中の LOQ は 0.05 µg/L と判定されました。

石英製容器は、密封作業を行う (PTFE 製テープと石英製フタで閉じ、PTFE テープで包む) ことで、Os の損失から守られます。一方、圧力密閉の石英製バイアルが、確実に密閉されるのは開始圧力に達したときです。このように、密閉の石英製容器を使用することで、サンプル容器が開いている時間を短縮でき、より高い回収率を実現できます。

炭酸塩を含むマトリックスのように、酸の添加により二酸化炭素が発生し、それが Os の大きな損失の原因となるような条件の厳しいサンプルでも、迅速な処理や冷却など、個別に最適化された処理ステップを踏むことで、回収率が向上します。今回はバイアルを装置に装着する前の水による冷却が密閉の石英製容器と同等の最適な方法で行われていなかったため、圧力密閉バイアル内の風邪シロップの回収率については、向上の余地があると考えられます。

プレテストの結果、圧力密閉の石英製バイアルでは、開始時の圧力が 65 bar を下回ると回収率が低下することが判明しました。そのため、開始時の圧力が 35 ~ 65 bar の場合、回収率は約 30 % の範囲で増加しています。さらに、安定化工程の約 18 時間後にサンプルを再測定したところ、回収率が最大で 9 % 低下していたことから、ICP での測定は安定化工程後すぐに行うべきであると分かりました。分解後に安定化液で希釈しなかった溶液は、回収率が 200 % 以上と大きく逸脱した結果を示しています。

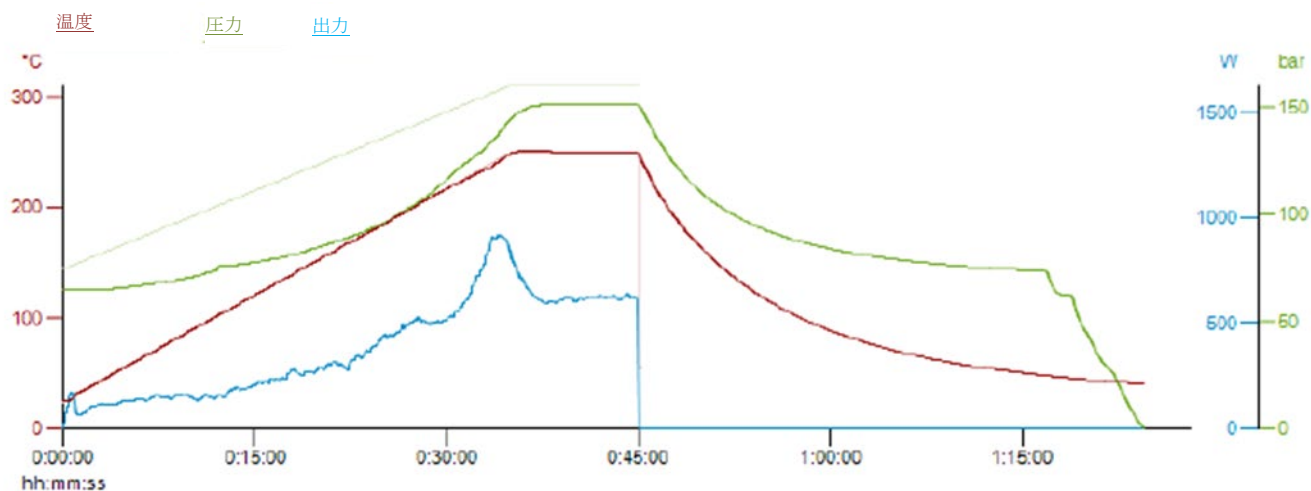


図 3: 密閉石英製容器での実行データ

| | | 風邪シロップ | API ニコチン酸 | USP <233> 制限値 |
|---------------|-----------|----------------|--------------|-----------------|
| 未添加サンプル[μg/g] | | < 0.0456 (LOQ) | 0.122 | - |
| 添加サンプル | 測定値[μg/g] | 2.10 | 7.99 | - |
| | 理論値 | 2.89 | 9.76 | - |
| | 回収率[%] | 72.9 | 81.9 | 70 - 150 |
| | RSD[%] | 4.4 | 3.0 | ≤ 20 |

表 6: 圧力密閉石英製バイアルでの回収率と相対標準偏差

| | | 風邪シロップ | API ニコチン酸 | USP <233> 制限値 |
|---------------|-----------|----------------|--------------|-----------------|
| 未添加サンプル[μg/g] | | < 0.0456 (LOQ) | 0.122 | - |
| 添加サンプル | 測定値[μg/g] | 2.42 | 8.91 | - |
| | 理論値 | 2.90 | 9.84 | - |
| | 回収率[%] | 83.3 | 90.6 | 70 - 150 |
| | RSD [%] | 6.0 | 3.5 | ≤ 20 |

表 7: 密閉石英製容器での回収率と相対標準偏差

5 結論


医薬品(風邪シロップ)に含まれるオスミウムと、有効成分の代表であるニコチン酸の定量分析において、**Multiwave 7000** と **ICP-MS** の組み合わせの適合性を検証しました。

圧力密閉の石英製バイアルを使用し、分解後に酢酸、アスコルビン酸、チオ尿素を含む安定化液で希釈した結果、平均回収率は **77 %**、**RSD** は最大 **4 %** でした。密閉の石英製容器を使用し、最適化された処理手順を採用することで、平均 **87 %** という高い回収率と最大 **6 %** の **RSD** を実現しました。すべての値は、**USP** に記載されている限界値(回収率は **70~150 %**、**RSD** は **20 %**)_n の間に収まっています。

Multiwave 7000 を製造するアントンパール社は、現行の規制要件すべて(**ICH**、**USP**、**Ph. Eur.**)に準拠した元素不純物測定用のサンプル前処理について、信頼性の高い強力な **GMP** 対応システムを提供しています。本装置は、**FDA 21CFR Part 11** に準拠したソフトウェアと、**USP <1058>** および **GAMP 5** に準拠した意味のある製薬認定文書を提供します。

6 参考文献

¹ Cornel Venzago et al., J. Anal. At. Spectrom., 2013, **28**, 1125



株式会社アントンパール・ジャパン 連絡先
Tel: 03-4563-2500
info.jp@anton-paar.com | www.anton-paar.com