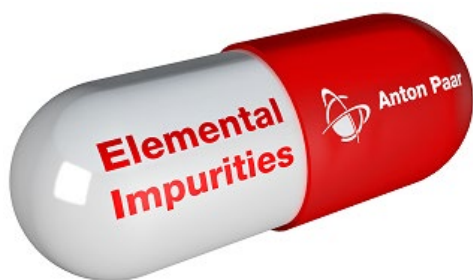


## PDC を使用した密閉容器内分解による元素不純物の解析 (ICH Q3D、USP <232>、<233>、Ph.Eur. 5.20 に準拠)

重大な規制の変更により、2018年1月、  
最終的にすべての医薬品に元素不純物に対する考慮が義務付けられました。

Multiwave 7000 は GMP 完全準拠で、多種多様な製剤を含め、  
さまざまなサンプルマトリクスの同時分解を可能にします。



### 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。

#### 1.1 規制の背景

これまでの重金属分析は、USP <231>、Ph. Eur. 2.4.8 に記載の界試験に従って、硫化物沈殿によって行われていました。この 100 年以上前の手順は非特異的なもので、具体的に定量的な結果を得ることができませんでした。

集中的な開発期間を経て、最終的に、関連するすべての規制において、古い湿式化学分析が最新の機器分析に段階的に置き換えられました。

こうした変化により、ICP-OES または ICP-MS と、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併用することが、元素不純物の具体的な定量化に不可欠になりました。

#### 医薬品規制調和国際会議 - ICH

ICH ガイドライン Q3D ステップ 4 は、2014 年 12 月に発効し、2018 年 1 月以降、市販されているすべての製品(新製品および既承認製品の提出)について遵守する必要があります。

ガイドラインでは、元素不純物をその毒性と医薬品への混入の可能性に基づいて、1、2A、2B、3 の 4 つのクラスに分類しています。各元素と各剤形(経口、非経口、吸入)について、PDE(Permitted Daily Exposure、一日曝露許容量)値を規定しています。

特に注意が必要なのは、クラス 1 の不純物、いわゆる「ビッグ 4」と呼ばれる Cd、Pb、As、Hg と、クラス 2A の金属である Co、V、Ni です。いずれも人体に有害な物質であるため、PDE は低く設定されています。これらの元素は、意図的に添加されていない場合でも、各 PDE に違反する可能性についてリスク分析が必要です。この評価の結果に応じて、正当な管理方針を定める必要があります。管理方針の範囲は、いかなる分析も実施しないことに始まり、定期的な調査、さらには各完成品バッチのルーチンテストにまで及びます。

#### 米国薬局方 - USP

USP <232> 「元素不純物 - 限界値」および<233> 「元素不純物 - 手順」は 2015 年 12 月に施行され、2018 年 1 月までに旧 USP <231>への参照がすべて置き換えられました。<232>に記載の限界値は、ICH Q3D の要件に完全に適合しています。

栄養補助食品については USP <2232>が 2013 年 8 月より施行されています。これは全元素汚染物質の分析手順に関する USP <233>を参照しており、2018 年 1 月以降も遵守する必要があります。

#### 欧州薬局方 - Ph. Eur.

欧州薬局方委員会は、ICH Q3D ガイドラインをそのまま Ph. Eur.5.20 に転載することを決定したため、2018 年 1 月以降に EU 市場で販売されるすべての既存製品について考慮しなければなりません。

## 1.2 Multiwave 7000 のアプリケーション

元素不純物分析に関してサンプル前処理に対する Multiwave 7000 の優れた適合性を実証するために、4 種類の医薬品(1 種類の栄養補助食品と 1 種類の有効成分(API)を含む)を定義しました。これらの医薬品はさまざまな製剤を幅広くカバーし、分解中の反応挙動もさまざまです。

**鎮痛錠剤:** 有効成分としてアセチルサリチル酸を含み、賦形剤として難分解性の二酸化ケイ素を含む

**栄養補助食品カプセル:** オメガ 3 脂肪酸と反応性魚油を含む

**風邪シロップ:** トリプル有効成分と多量のアルコール、砂糖、グリセリンを含む

**ニコチン酸:** 分解全体で 200 °C 以上の温度を必要とする芳香族 API

USP <233>に基づき、各元素の J レベル(測定装置の動作範囲に合わせて希釈したサンプル前処理後の目標濃度)の 50~150 %の範囲でサンプルに添加しました。これらのレベルの評価では、製品の添付文書に記載されているそれぞれの PDE および一日最大投与量を考慮しました。API については、各医薬品が 10 g/day の最大一日投与量で投与されると定義されています。

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した。焦点を当てたのは、PDE レベルが最も低い「ビッグ 4」と呼ばれる Cd、Pb、As、Hg です。特に As と Hg の化合物は揮発性であるため、分析の課題となっています。

## 2 測定機器



図 1: Multiwave 7000

分解は、Rack 18、18 mL の石英製バイアル(HNO<sub>3</sub>のみを含むサンプル溶液)、18 mL の PTFE-TFM 製バイアル(HF を含むサンプル溶液)を使用して、Multiwave 7000 で行いました。

定量分析は、ICP-MS(Agilent 7900 および 8800、いずれもコリジョンセルを搭載)で行いました。



図 2: Multiwave 7000 用 Rack 18

## 3 実験

### 3.1 サンプル

#### 鎮痛錠剤

- 有効成分:  
アセチルサリチル酸
- 賦形剤:  
二酸化ケイ素、炭酸ナトリウム、カルナウバロウ、ヒプロメロース、ステアリン酸亜鉛

#### 栄養補助食品カプセル

- 成分:  
サーモンオイルを 50 %以上含む 70.4 %魚油濃縮物、ゼラチン、グリセリン、トコフェロール

#### 風邪シロップ

- 有効成分:  
ドキシルアミンコハク酸塩、エフェドリンヘミ硫酸塩、デキストロメトルファン臭化水素酸塩、アセトアミノフェン(パラセタモール)
- 賦形剤:  
精製水、ショ糖(27.5 g/100 mL)、エタノール 96 %(合計: 18 vol %)、グリセリン、Macrogol 6000(ポリエチレングリコール)、クエン酸ナトリウム二水和物、クエン酸一水和物、安息香酸ナトリウム、アネトール、キノリンイエロー、ブリリアントブルー

#### ニコチン酸(API)

### 3.2 分解・添加手順

すべてのサンプルは未添加と添加で3回調製しました(n=3)。

4種類とも USP<232>に記載の経口剤形の限界値を使用しました。

USP 232 に準拠した PDE 限界値	経口 PDE [µg/day]
Cd	5
Pb	5
As	15
Hg	30

表 1: 経口剤形の PDE 限界値

各元素の PDE 限界値を最大一日投与量で割り、各製品について[µg/g]単位の目標値を算出しました。

	鎮痛錠剤	栄養補助食品カプセル	風邪シロップ	API(ニコチン酸)
最大一日投与量	6錠	2カプセル	30 mL	10 g *)
約投与単位あたりの重量 [mg]	660	710	1120 **)	-
約最大一日投与量 [g]	4	1.4	34	10
目標限界値 [µg/g]	Cd	1.26	0.149	0.500
	Pb	1.26	0.149	0.500
	As	3.79	0.446	1.50
	Hg	7.58	0.893	3.00

表 2: 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

各元素の J レベルは、各製品のサンプル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対象元素の濃度と同じになります。個々の添加レベルに異なる希釈係数を適用したため、次の表では、ICP での測定のための最終希釈の前の段階での濃度を示しています。この異なる希釈率(1:10~1:200)は、ICP 測定の最終的な Hg 濃度が各サンプル溶液で 5 µg/L 超えないように使用されます。

	鎮痛錠剤	栄養補助食品カプセル	風邪シロップ	API(ニコチン酸)
サンプル量	1錠 約 660 mg	1カプセル 約 710 mg	1 mL 約 1120 mg	500 mg
分解後の最終量 [mL]	20	20	20	20
J レベル [µg/L]	Cd	41.7	125	8.33
	Pb	41.7	125	8.33
	As	125	375	25.0
	Hg	250	750	50.0

表 3: J レベル

Cd、Pb、As、Hg の 1、10、100 mg/L の各量の添加溶液を、上記 J レベルの 50、100、150 % になるように、秤量したサンプルに分解前に重量で添加します。各添加液は、1000 mg/L のストック溶液を重力で希釈し、10 % HNO<sub>3</sub> 中で調製します。

以下の量の試薬を使用します。

	鎮痛錠剤	栄養補助食品カプセル	風邪シロップ	API(ニコチン酸)
H <sub>2</sub> O *)	1.4	1.4	1.4	1.4
HNO <sub>3</sub>	5	7	3	5
HF	0.5 **)	-	-	-
HCl ***)	1	1	1	1

表 4: 試薬の使用量

\*) H<sub>2</sub>O 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)。

\*\*) HF を使用した 1 セット(未添加、50、100、150 %)と HF を使用していない 1 セットを準備しました。

\*\*) HCl は分解後に添加しました。

試薬は、表に記載の順序でバイアルに入れました(H<sub>2</sub>O の後に HNO<sub>3</sub>)。

サンプル、添加溶液、試薬を加えた後、バイアルをプラグオンキャップで閉じました。

すべてのサンプルはシェーカーで十分に混合し、バイアルを **Rack 18** に入れました。

風邪シロップは、発熱反応が始まったらすぐに流水で冷却する必要があります。

サンプルの色がオレンジから緑に変わったところで冷却を止めました。

ラックは、溶液(150 mLの水と 5 mLの HNO<sub>3</sub>)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パー(PDC)に入れ、分解プログラムを開始しました。

冷却後、Hgの安定化のために HCl を 1 mL 加えました。続けてサンプルを 50 mL のチューブに移して 30 mL まで満たし、分析しました。

各添加レベルに応じて、測定前に溶液を 10 % HNO<sub>3</sub> と 1 % HCl の混合物で 1:10~1:200 に希釈しました。

### 3.3 温度プログラム

開始圧力: 30 bar

冷却温度: 80 °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

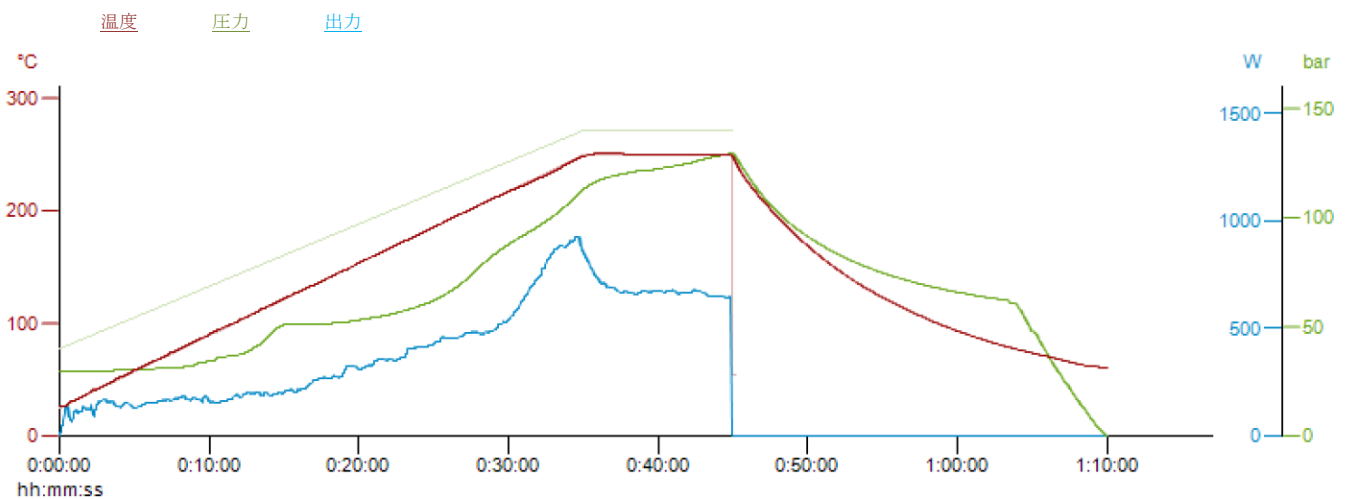


図 3: 実行データ

## 4 結果

USP <233>の手順検証に記載されている限界値(スパイク回収率 70 %~150 %、相対標準偏差(RSD)20 %以下)との関係だけでなく、絶対的な数値に関しても、優れた結果が得られました(図 4、図 5 を参照)。回収率の平均値は、Cd が 101 %、Pb が 94 %、As が 102 %、Hg が 100 % でした。各元素の平均 RSD は 2 % です。

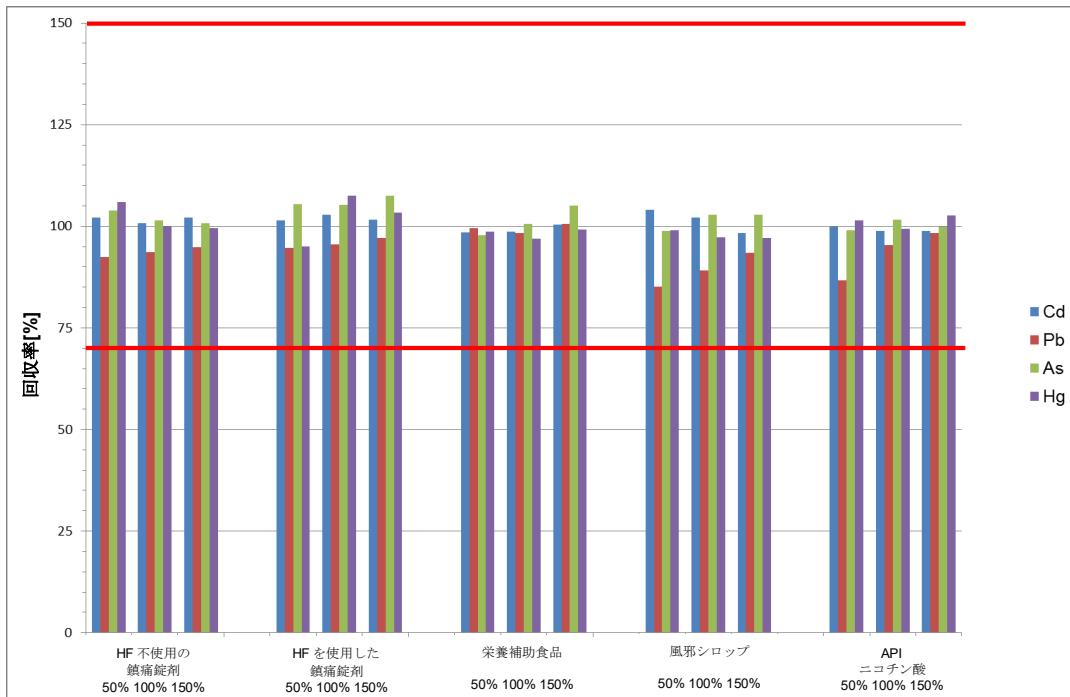


図 4: すべての製品の回収率と添加レベル

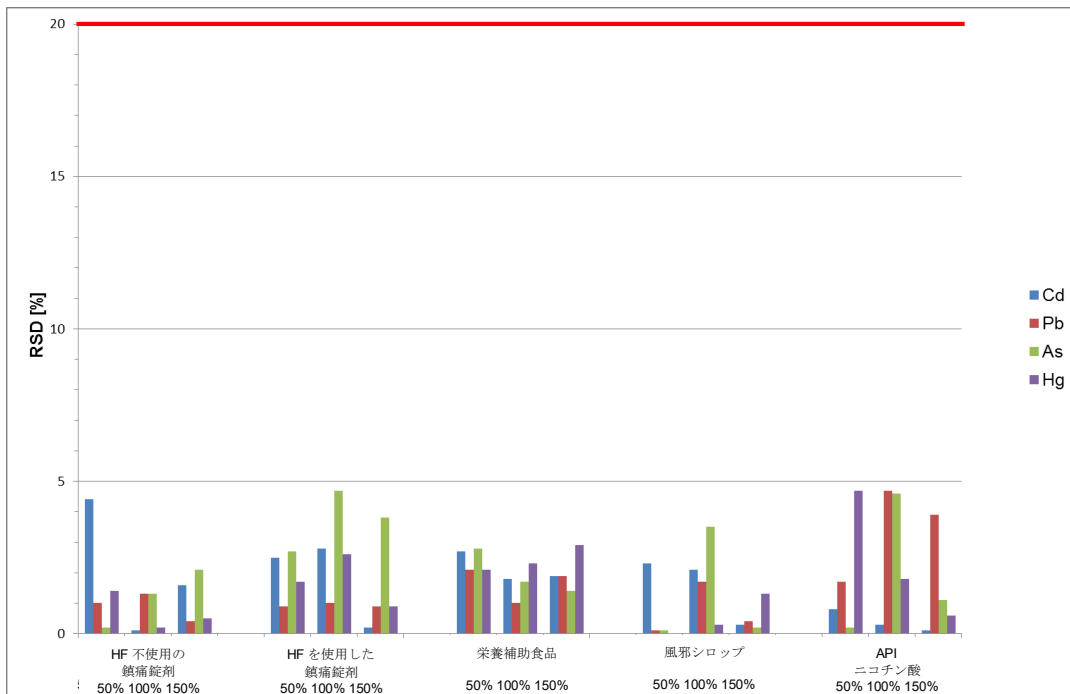


図 5: すべての製品の RSD、ローター、添加レベル

ICP の測定液の LOQ は、Cd が 0.05 µg/L、Pb が 0.02 µg/L、As と Hg が 0.1 µg/L でした。

#### 4.1 結果 - 鎮痛錠剤

サンプル / 添加レベル		Cd [µg/g]	Pb [µg/g]	As [µg/g]	Hg [µg/g]
未添加		< 0.04 (LOQ)	0.05	< 0.09 (LOQ)	< 0.09 (LOQ)
目標限界値の 50 %	測定値	0.61	0.56	1.88	3.52
	理論値	0.60	0.60	1.81	3.32
	回収率[%]	102	92.5	103	106
	RSD[%]	4	1	0.2	1.4
目標限界値の 100 %	測定値	1.20	1.16	3.70	7.33
	理論値	1.20	1.24	3.65	7.32
	回収率[%]	100.7	93.7	102	100.1
	RSD[%]	0.1	1.3	1	0.2
目標限界値の 150 %	測定値	1.87	1.72	5.53	11.01
	理論値	1.83	1.82	5.48	11.06
	回収率[%]	102	94.9	101	99.6
	RSD[%]	2	0.4	2	0.5

表 6: HF を使用せずに分解した鎮痛錠剤の回収率 (n=3)

サンプルの秤量と希釈に基づいて濃度値に換算した定量限界値は、Cd が 0.04 µg/g 未満、Pb が 0.02 µg/g 未満、As と Hg が 0.09 µg/g 未満です。未添加のサンプルでは、Pb を除く各元素に関連する強度が見られなかったため、添加サンプルの Cd、As、Hg の理論値は、回収率を計算するために実際に添加した値と等しく設定しました。

二酸化ケイ素が完全に分解されなかったのか、各分解液にはほぼ残留物が見られませんでした。各元素の

回収率は 93 % ~ 106 % でした。相対標準偏差は 4 % 以内です。残留物はサンプルチューブの底に完全に沈んでいたため、透明な上澄み液のアリコートを用いた ICP-MS 分析のために簡単に採取できました。

0.5 mL の HF を分解液に加えた 2 セット目のサンプルを分解したところ、沈殿物は残っていませんでした。この条件では関連性のある差異は見られませんでした (回収率は 95 % ~ 108 %、RSD は 4.7 % 未満)。

## 4.2 結果 - 栄養補助食品カプセル

サンプル / 添加レベル		Cd [µg/g]	Pb [µg/g]	As [µg/g]	Hg [µg/g]
未添加		< 0.04 (LOQ)	0.06	< 0.09 (LOQ)	< 0.09 (LOQ)
目標限界値の 50 %	測定値	1.72	1.82	5.19	10.52
	理論値	1.75	1.83	5.30	10.66
	回収率[%]	98.5	99.6	97.8	98.7
	RSD[%]	2.7	2.1	2.8	2.1
目標限界値の 100 %	測定値	3.48	3.54	10.62	20.41
	理論値	3.53	3.60	10.56	21.04
	回収率[%]	98.7	98.4	101	97.0
	RSD[%]	1.8	1.0	2	2.3
目標限界値の 150 %	測定値	5.28	5.32	16.76	31.14
	理論値	5.26	5.29	15.94	31.39
	回収率[%]	100	101	105	99.2
	RSD[%]	2	2	1	2.9

表 7: 栄養補助食品カプセルの回収率 (n=3)

サンプルの秤量と希釈を考慮すると、定量限界は Cd が 0.04 µg/g 未満、Pb が 0.02 µg/g 未満、As と Hg が 0.09 µg/g 未満です。未添加のサンプルでは、Pb を除く各元素に関連する強度が見られなかったため、添加

サンプルの Cd、As、Hg の理論値は、回収率を計算するために実際に添加した値と等しく設定しました。各元素の回収率は 97 %~105 % です。相対標準偏差はすべて 2.9 % 未満です。

## 4.3 結果 - 風邪シロップ

サンプル / 添加レベル		Cd [µg/g]	Pb [µg/g]	As [µg/g]	Hg [µg/g]
未添加		< 0.03 (LOQ)	0.02	< 0.05 (LOQ)	< 0.05 (LOQ)
目標限界値の 50 %	測定値	0.07	0.08	0.22	0.43
	理論値	0.07	0.10	0.22	0.44
	回収率[%]	104.0	85.2	98.8	99.1
	RSD[%]	2.3	0.1	0.1	0.0
目標限界値の 100 %	測定値	0.14	0.14	0.45	0.86
	理論値	0.13	0.16	0.44	0.88
	回収率[%]	102.2	89.1	103	97.2
	RSD[%]	2.1	1.7	4	0.3
目標限界値の 150 %	測定値	0.21	0.21	0.67	1.27
	理論値	0.22	0.23	0.65	1.31
	回収率[%]	98.3	93.4	102.9	97.1
	RSD[%]	0.3	0.4	0.2	1.3

表 8: 風邪シロップの回収率 (n=3)

この製品の場合、サンプルの秤量と希釈に基づく定量限界は、Cd が 0.03 µg/g 未満、Pb が 0.01 µg/g 未満、As と Hg が 0.05 µg/g 未満です。未添加のサンプルでは、Pb を除く各元素に関連する強度が見られなかったため、添加サンプルの Cd、As、Hg の理論値は、

回収率を計算するために実際に添加した値と等しく設定しました。

各元素の回収率と添加レベルは、85 %～104 %という説得力のある結果が示されました。相対標準偏差は 4 %を超えていません。

#### 4.4 結果 - API(ニコチン酸)

サンプル / 添加レベル		Cd [µg/g]	Pb [µg/g]	As [µg/g]	Hg [µg/g]
未添加		< 0.06 (LOQ)	0.05	< 0.12 (LOQ)	< 0.12 (LOQ)
目標限界値の 50 %	測定値	0.24	0.23	0.72	1.47
	理論値	0.24	0.27	0.72	1.45
	回収率[%]	99.8	86.7	99.1	101.4
	RSD[%]	0.8	1.7	0.2	4.7
目標限界値の 100 %	測定値	0.48	0.47	1.48	2.91
	理論値	0.48	0.50	1.45	2.94
	回収率[%]	98.9	95.3	102	99.3
	RSD[%]	0.3	4.7	5	1.8
目標限界値の 150 %	測定値	0.72	0.73	2.14	4.53
	理論値	0.73	0.74	2.14	4.42
	回収率[%]	98.8	98.3	99.8	103
	RSD[%]	0.1	3.9	1.1	1

表 9: API(ニコチン酸)の回収率 (n=3)

API の場合、サンプルの秤量と希釈に基づく LOQ は、Cd が 0.06 µg/g 未満、Pb が 0.02 µg/g 未満、As と Hg が 0.12 µg/g 未満です。

各元素の回収率と添加レベルは 87 %～103 %で、相対標準偏差はすべて 5 %未満です。

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。

## 5 結論

Multiwave 7000 と ICP-MS を併用したマイクロ波による密閉容器内分解の適合性は、4 種類の医薬品(栄養補助食品 1 種と有効成分 1 種を含む)で検証することに成功しました。

3 回の測定で、非常に低いばらつき(平均 RSD < 1.7 %)と共に 85 %～108 %(平均 99 %)という優れた回収率が得られました。USP <233>に記載の各限界値は、添加回収率が 70 %～150 %、再現性が 20 % RSD 以下です。

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。

株式会社アントンパール・ジャパン

Tel : 03-4563-2500

info.jp@anton-paar.com