

医薬品に含まれる元素不純物の分析方法  
(フッ化水素酸導入編)

20220615

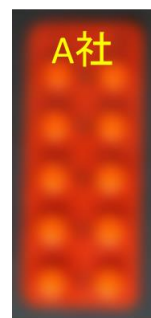
2021 年 6 月 7 日に公示された第十八改正日本薬局方(日局 18)では、元素不純物試験法の分析手法として、誘導結合プラズマ発光分光法(ICP-AES)又は、誘導結合プラズマ質量分析法(ICP-MS)が適用可能と記載されている。とりわけ、高感度分析が可能な ICP-MS が第一候補として利用されることが見込まれる。また、試料の前処理においては、揮発性元素の揮散を防ぐことができる密閉系前処理法であるマイクロ波酸分解法が推奨されている。

試料のマイクロ波分解では、有機物を分解するため硝酸を加えて行う。また、様々な金属イオンを水溶液中で安定的に溶解させるため、塩酸も添加する場合が多い。しかしながら、無水ケイ酸などの無機物質を多く含む製剤の場合、硝酸・塩酸の添加だけでは、分解できないことが分かっている。このような製剤に対しては、フッ化水素酸を添加する必要がある。しかし、フッ化水素酸の取り扱いには細心の注意が必要であり、また装置の一部をフッ化水素酸耐性の部品に交換する必要があることなど、フッ化水素酸に対応した作業が必要となる。本稿では、製剤の元素不純物分析における、フッ化水素酸を使用した場合の手順や注意点について記述し、フッ化水素酸導入系の有用性について解説する。

※汎用的な分析方法につきましては、当センターホームページの実験マニュアル「医薬品に含まれる元素不純物の分析方法(基礎編)」に記載してあります。試料の調製方法や、測定結果の解析方法などの詳細な手順は、こちらをご参照ください。

### 【試料のマイクロ波分解】

高血圧症の薬であるアゼルニジピン錠を例とし、試料のマイクロ波分解方法について記載する。A社のアゼルニジピン錠の成分を図1に記載する。当センターでは通常、汎用的な分解メソッドとして、図2で示す条件でマイクロ波分解を行っている。アゼルニジピン錠について汎用的なメソッドで分解を試みた結果、図2の右の写真のように、処理液中に未分解物が確認された。



#### 【成分】

- D-アゼルニジピン
- セルロース
- ヒドロキシプロピルセルロース
- 軽質無水ケイ酸
- ポリソルベート80
- メグルミン
- カルメロースカルシウム
- ステアリン酸マグネシウム

図1 A社のアゼルニジピン錠の主な成分

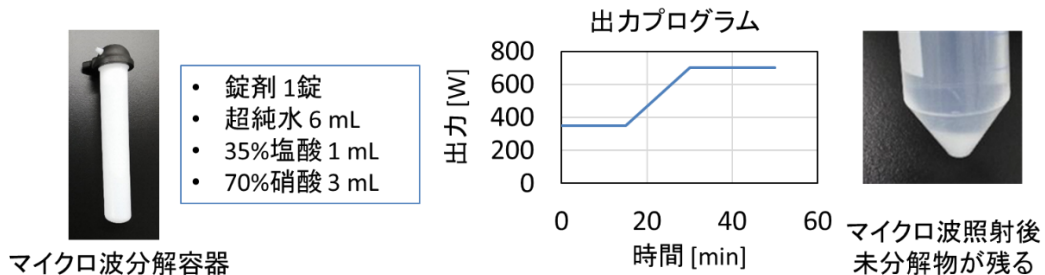


図2 汎用的なメソッドによる分解例

未分解物の同定を行うため、遠心分離により未分解物を取り出し、乾燥後に赤外吸収スペクトルを測定した。また、製剤の含有成分である軽質無水ケイ酸のみの赤外吸収スペクトルも測定した(図3)。両方のスペクトルは、ほぼ一致したことから、未分解物は製剤の含有成分である軽質無水ケイ酸であると推察できた。

### 赤外吸収スペクトル

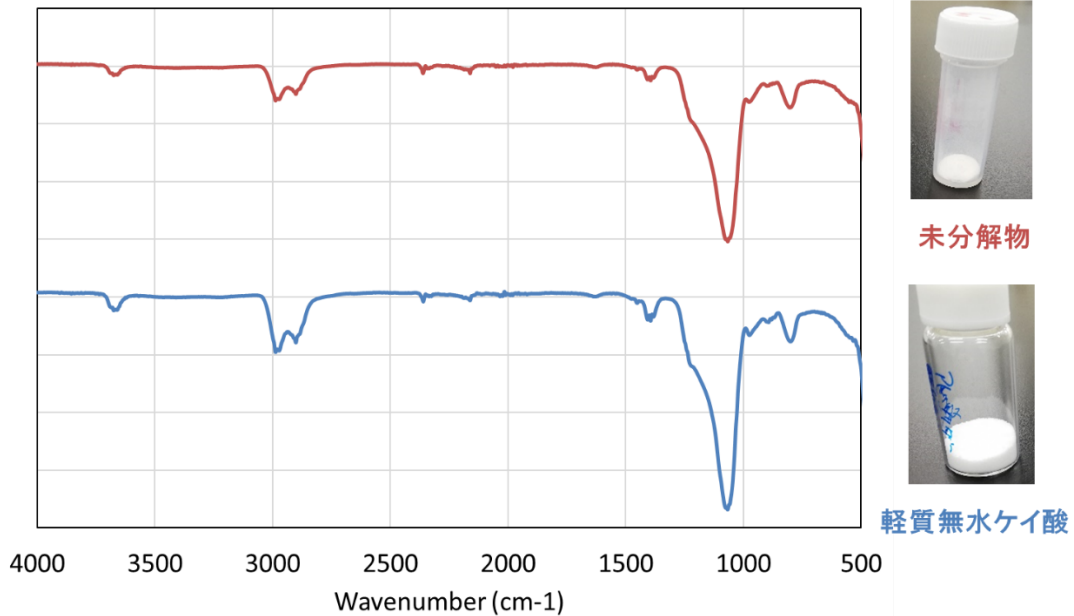


図3 未分解物（上）と軽質無水ケイ酸（下）の赤外吸収スペクトル

軽質無水ケイ酸  $\text{SiO}_2$  は、フッ化水素酸 (HF) を用いることで、式①に示す反応により分解することができる。



フッ化水素酸を 0.1 mL 添加し、その他の分解条件は汎用的な分解メソッドと同一にして分解操作を行ったところ、図4に示すように、未分解物は確認されなかった。よって、軽質無水ケイ酸の分解には、フッ化水素酸の添加が有効であることが分かった。

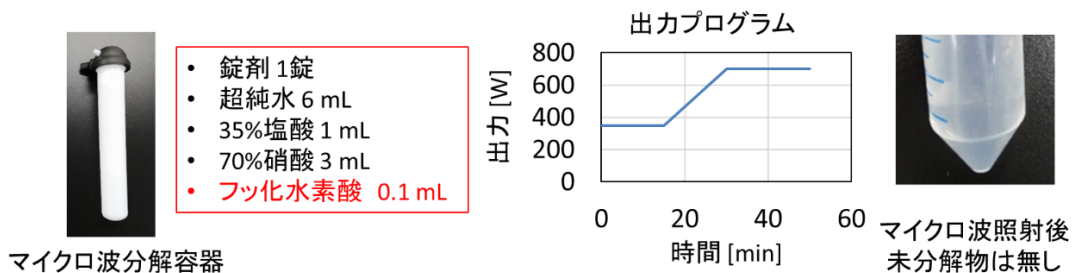


図4 フッ化水素酸を用いた場合の分解例

### 【ICP-MS のパーツ交換】

フッ化水素酸を添加して試料溶液を調製した場合、ICP-MS に使用されている石英製のパーツは、式①の反応により溶解してしまうため、試料溶液が接触する石英製のパーツをフッ化水素酸耐性のテフロン製パーツに取り換える必要がある(図5)。また、インターフェースであるサンプリングコーン及びスキマーコーンは、通常では Ni 製を使用するが、フッ化水素酸を使用する場合は、Pt 製のコーンにそれぞれを取り換える(図6)。

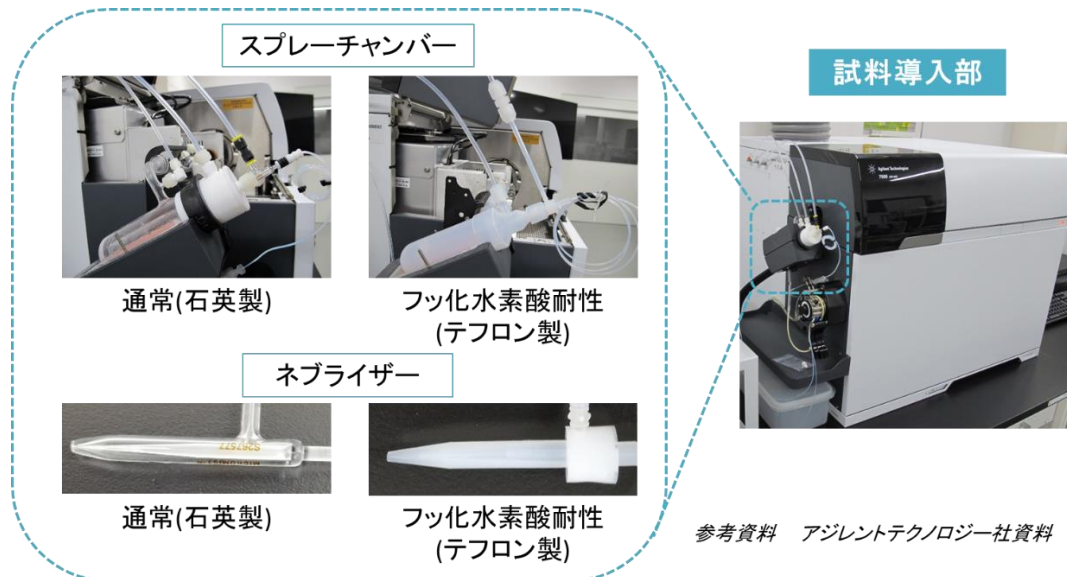


図5 試料導入部のパーツ交換

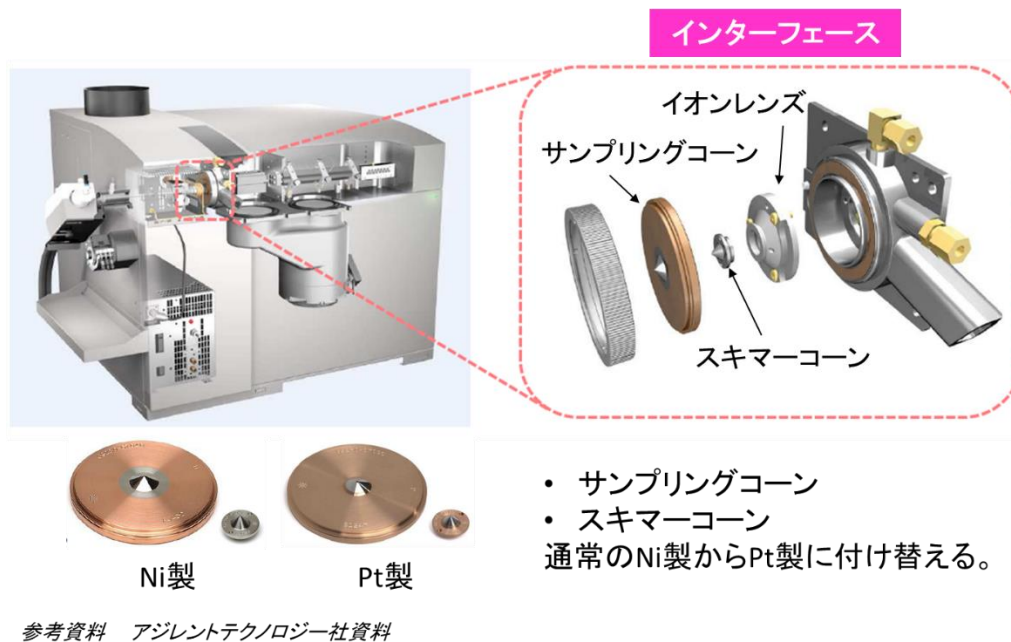


図6 インターフェース部のパーツ交換

## 【標準溶液の調製】

試料のマイクロ波分解及び、ICP-MS のパーツ交換が完了したら、ICP-MS 測定用の標準溶液の調製を行う。標準原液は表 1 に示すように、Q3D の経口製剤における許容暴露量 (PDE 値) と同じ割合で混合されたものを使用する。本試験は、日局 18 の元素不純物試験法に則って行うため、検量線用の標準溶液の各濃度は  $N$  値を基に決定する。 $N$  値は、PDE 値を製剤中の許容濃度に換算し、マイクロ波試料分解後の希釈率を考慮して決定する。本試験では製剤の一日最大摂取量が 10 g 未満の場合を想定して、オプション 1 を採用した。よって、PDE 値を 10 で割り算することで、製剤中の許容濃度が算出できる。次に、アゼルニジピン錠の重量 0.25 g より、試料溶液を最終的に 50 mL とし検液を調製した場合の  $N$  値を算出した。表 2 に  $0N$ 、 $0.5N$ 、 $1N$ 、 $1.5N$  を基に算出した各元素の濃度を記載する。標準原液を表 2 の濃度となるように、希釈することで標準溶液を調製した。この際、標準溶液に含まれる酸の終濃度が、マイクロ波分解後の試料の酸濃度と同じになるように硝酸・塩酸を添加した。今回の場合、硝酸 4.2%、塩酸 0.7%となる。マイクロ波分解に使用したフッ化水素酸は微量であるため、標準溶液には、フッ化水素酸を添加せずに調製した。

表 1 標準原液 (Q3D ガイドライン対応)

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 : Tl 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 1,200,000 ppb : Sb 1,400,000 ppb : Ba 3,000,000 ppb : Cu, Mo 6,000,000 ppb : Sn 11,000,000 ppb : Cr

注意：本実験マニュアルは研究用であり、公的な試験方法を示すものではありません

表 2 検量線の各濃度

クラス	元素	【単位 ppb = ng/mL】			
		レベル 1 0 J	レベル 2 0.5 J	レベル 3 1 J	レベル 4 1.5 J
1	As	0	3.75	7.5	11.25
	Cd	0	1.25	2.5	3.75
	Hg	0	7.5	15	22.5
	Pb	0	1.25	2.5	3.75
2A	V	0	25	50	75
	Co	0	12.5	25	37.5
	Ni	0	50	100	150
2B	Se	0	37.5	75	112.5
	Ag	0	37.5	75	112.5
	Tl	0	2	4	6
	Ru	0	25	50	75
	Rh	0	25	50	75
	Pd	0	25	50	75
	Os	0	25	50	75
	Ir	0	25	50	75
	Pt	0	25	50	75
	Au	0	25	50	75
3	Li	0	137.5	275	412.5
	Cr	0	2,750	5,500	8,250
	Cu	0	750	1,500	2,250
	Mo	0	750	1,500	2,250
	Sn	0	1,500	3,000	4,500
	Sb	0	300	600	900
	Ba	0	350	700	1,050

【内標準溶液の調製】

表 3 に示す内標準原液を 100 倍希釈して調製する。内標準溶液に含まれる酸の終濃度が、硝酸 4.2%、塩酸 0.7%となるように硝酸・塩酸を添加する。

表 3 内標準原液

使用内標準原液	含有元素
Pharma Internal Standard 1	25,000 ppb : Te
	10,000 ppb : Sc
	5,000 ppb : Ge, In, Lu, Bi

【測定】

試料溶液と標準溶液の調製が完了したら、測定を行う。フッ化水素酸導入系においても、測定の手順は通常系と同一である。「装置の立ち上げ(プラズマ点火)→測定メソッドの作成→標準溶液の測定→試料溶液の測定→プラズマ消火」となる。立ち上げ作業には 30 分間、測定には(標準溶液の数+試料溶液の数)×3 分間、プラズマ消火には 10 分間ほど必要となる。

【解析】

濃度単位に留意しながら測定結果の解析を行う。検液の最終体積、製剤の重量を基に製剤中の金属濃度を計算する。得られた結果を PDE 値から算出した製剤中の許容値と比較して評価を行う。図 7 に今回使用したアゼルニジピン錠中の金属濃度及び許容値を示す。アゼルニジピン錠に含まれる金属元素の濃度はすべて許容値以下であることがわかる。

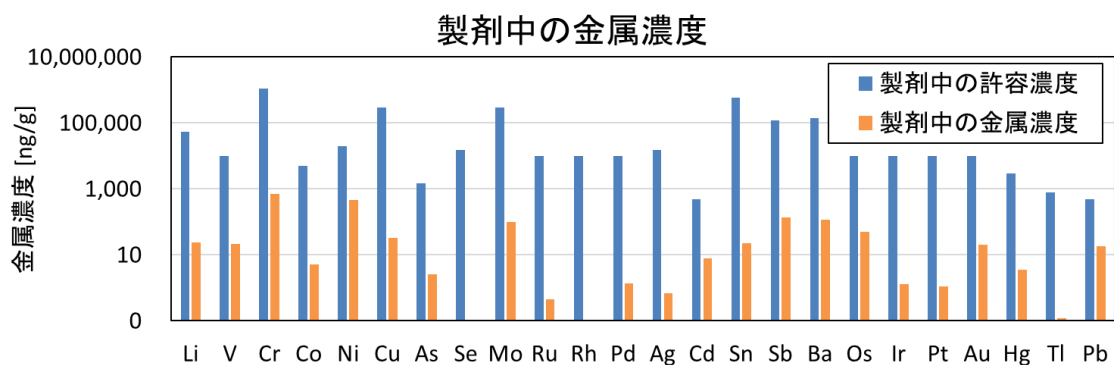


図 7 アゼルニジピン錠中の金属濃度と許容濃度の比較

【参考】

上述の通り、フッ化水素酸導入系においても、日局 18 の元素不純物分析試験法に則った試験を行うことができる。しかしながら、フッ化水素酸導入系では通常系と比較して、ICP-MS の測定感度が低下することが分かっている。通常系とフッ化水素酸導入系の両方で、同濃度の元素を測定した際の感度比較の結果を図 8 に示す。フッ化水素酸導入系の方が通常系より、感度が低くなっていることが分かる。このため、フッ化水素酸を必要としない試験では、通常系で分析を行った方が測定結果の精度は高いと考えられる。

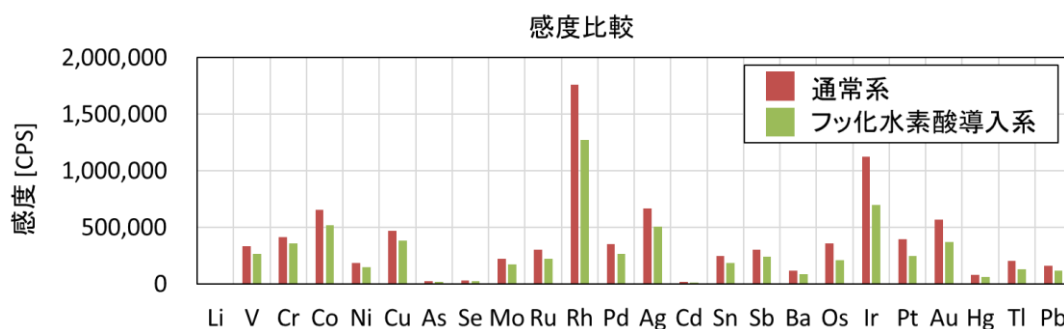


図 8 通常系とフッ化水素酸導入系における各種金属元素の測定感度の比較

【謝辞】

本マニュアルに記載のマイクロ波分解方法の確立に際し、株式会社アントンパールジャパン様に多くのアドバイスを頂きました。感謝申し上げます。



【試薬】

硝酸 電子工業用 70% 富士フイルム和光 製品番号 143-09741

→ マイクロ波分解、標準溶液の調製、内標準溶液の調製に使用。

塩酸 電子工業用 35% 富士フイルム和光 製品番号 087-10361

→ マイクロ波分解、標準溶液の調製、内標準溶液の調製に使用。

フッ化水素酸 原子吸光用 50% 関東化学 製品番号 18083-2B

→ マイクロ波分解に使用。

超純水 超純水装置 Milli-Q Direct 8/16 MILLIPORE

→ 標準溶液、内標準溶液、試料溶液調製時に使用。

チューニング液 Li, Mg, Y, Ce, Tl, Co; 1 µg/L(=ppb); 2% HNO<sub>3</sub> Agilent  
製品番号 5185-5959

→ 装置立ち上げ時と測定前のチューニング時に使用。

標準原液

ICH/USP Oral Target Elements Standard A Agilent 製品番号 5190-9766

ICH/USP Oral Target Elements Standard B Agilent 製品番号 5190-9767

ICH/USP Oral Target Elements Standard C Agilent 製品番号 5190-9768

ICH/USP Oral Target Elements Standard D Agilent 製品番号 5190-9769

→ 4種類の標準原液を混合して使用。

内標準原液 Pharma Internal Standard 1 Agilent 製品番号 5190-9770

→ 100倍希釈して使用。

【装置内容】

マイクロ波試料前処理装置 Multiwave PRO Anton Paar

- ローター 8NXF100 → 最大8検体まで、同時に分解が可能。
- 分解容器 NXF100 材質 PTFE-TFM → 最大温度 260°C、制御圧力 60 bar

誘導結合プラズマ質量分析計 Agilent 7900 ICP-MS

- インテグレートオートサンプラ (I-AS) → 89検体まで設置可能。
- ネブライザー、スプレーチャンバー → テフロン製を使用。
- トーチ → サファイア製を使用。

注意：本実験マニュアルは研究用であり、公的な試験方法を示すものではありません

- コリジョン/リアクションガス → 全元素で He モードを使用。
- マスフィルタ → 四重極マスフィルタを使用。
- ソフト MassHunter → ICP-MS の操作、データ解析に使用。

【ICP-MS 測定条件】

- プラズマモード → 低マトリックス
- RF パワー → 1550 W
- サンプリング位置 → 8.0 mm
- ネブライザガス → 1.08 L/min
- メークアップガス → 0.00 L/min
- オプションガス → 0%
- 補助ガス → 0.90 L/min
- プラズマガス → 15.0 L/min
- ネブライザポンプ → 0.10 rps
- スプレーチャンバー温度 → 2°C
- He 流量 → 4.3 mL/min
- サンプリングコーン → Pt
- スキマーコーン → Pt