

## 医薬品中の金属不純物分析

杉山 尚樹

### 1 はじめに

医薬品の有効性、安全性を保障する上で純度試験はかかすことができない。医薬品（ここでは原材料、添加物ならびに最終医薬品を含めさせていただく）中の有機不純物、無機不純物（金属不純物）、及び残留溶媒に対しては規制値が定められ、医薬品が認可されるには、その医薬品中に含まれる不純物の濃度が規制値以下であることを保障しなければならない。この金属不純物分析には金属硫化物（鉛、水銀、ヒ素、カドミウム、アンチモン、スズ、ビスマス、銀、銅、モリブデン）の発色を利用した重金属総量での評価が使用されてきた。しかし、感度の不足、元素選択性の無さ、定量性の低さ、揮発性元素の回収率の低さ等の欠点から見直しが進められ、健康へのリスク評価をもとに新たな規制値が設定された<sup>1)2)</sup>。新しい規制値は元素ごとに許容暴露レベルが設定され、それらの値は従来値より低い値となっている。このため、その試験法は高感度で元素選択性のある誘導結合プラズマ発光分析装置（ICP-OES）や誘導結合プラズマ質量分析装置（ICP-MS）を中心とした機器分析へと移行しつつある。

ICP-OES, MS は多元素同時分析装置で表 1 に示すように、それぞれ ng/g (ppb), pg/g (ppt) の検出下限を持つ（複数のメーカーのアプリケーションノートからの平均値）。このように ICP-MS の検出下限は 3 桁ほど ICP-OES より低い、一方マトリックス耐性に関しては ICP-OES が優れている（直接導入できるサンプル中のマトリックス濃度が高い）。本報では、より低い規制値の医薬品の分析にも対応できる ICP-MS に話を絞り、医薬品中の金属不純物分析法と、実際に装置を運用する上での留意点について解説する。なお新しい規制の詳細については参考文献等を参照していただきたい<sup>1)2)</sup>。

### 2 ICP-MS による金属不純物分析

#### 2.1 測定対象元素とターゲット限界値

表 1 に示した 24 元素は日米 EU 医薬品規制調和国際会議（ICH）で決定された医薬品中元素不純物ガイドライン ICH Q3D の規制対象元素で、その毒性と医薬品中へ混入する可能性から 4 種類のクラスに分けられている<sup>2)</sup>。クラス 1 の 4 元素、カドミウム (Cd)、鉛 (Pb)、水銀 (Hg) ならびにヒ素 (As) は Big Four と呼ばれ

表 1 医薬品中の金属不純物ガイドラインと ICP-OES, MS の検出下限 (DL)

クラス	元素	質量数	内標準元素	PDE	J	DL-OES	DL-MS
				μg/day	ppb	ppb	ppt
1	Cd	111, 114	Tb	5	2	0.1	0.1
	Pb	207, 208	Bi	5	2	1.0	0.4
	As	75	Sc	15	6	1.5	3.6
	Hg	201, 202	Bi	30	12	0.7	4.0
2A	Co	59	Sc	50	20	0.4	0.2
	V	51	Sc	100	40	0.4	4.5
	Ni	60, 62	Sc	200	80	0.4	1.7
2B	Tl	203, 205	Bi	8	3.2	3.2	0.1
	Au	197	Bi	100	40	1.0	0.2
	Pd	105	Tb	100	40	2.0	1.3
	Ir	191, 193	Bi	100	40	1.0	0.3
	Os	188, 189	Bi	100	40	6.0	0.6
	Rh	103	Tb	100	40	0.5	0.1
	Ru	99, 101	Tb	100	40	1.0	0.2
	Se	78, 82	Tb	150	60	2.5	20
	Ag	107, 109	Tb	150	60	0.5	0.5
	Pt	194, 195	Bi	100	40	1.0	0.2
3	Li	6, 7	Sc	550	220	0.2	10
	Sb	121, 123	Tb	1,200	480	2.6	0.2
	Ba	135, 137	Tb	1,400	560	0.1	0.5
	Mo	95, 97	Tb	3,000	1,200	0.4	1.0
	Cu	63, 65	Sc	3,000	1,200	0.4	3.0
	Sn	118, 119	Tb	6,000	2,400	1.6	1.0
	Cr	52, 53	Sc	11,000	4,400	0.2	2.0

る高い毒性を持つ元素で、最も厳しい規制値が適用される。クラス 2 の 13 元素は、投与経路に依存した毒性を発現する物質であり、中でもクラス 2A のコバルト (Co)、ニッケル (Ni)、バナジウム (V) は医薬品中に存在する可能性が高いと考えられ、Big Four とあわせこの 7 元素はリスク評価が必須となっている。医薬品中に存在する可能性が低いと考えられるクラス 2B の 10 元素、ならびに比較的毒性の低いクラス 3 の 7 元素は、医薬品の製造過程で触媒等、意図的に使用される場

合に測定し、規制値以下であることの証明が求められる。

新しい規制では、経口薬、注射薬、及び吸入薬で異なる一日許容暴露量（PDE）が設定されている。表1に使用の多い経口薬のPDEと、これを分析用に調製したサンプル中の濃度に換算した値“J”を示す<sup>3)</sup>。米国薬局方（USP）ではこの分析サンプル中の規制濃度をターゲット限界、Jと称し、以下で計算される。

$$J = \text{PDE} / \{ (1 \text{ 日の最大摂取量}) * (\text{サンプル調製の希釈率}) \}$$

ここでは1日10g摂取する経口薬を希釈率250倍（0.2gの医薬品を50mLのサンプルとして調製）に調製したサンプルで分析する場合を示した。分析機器の検出下限はJに対して十分に低い値をもつ必要があるが、表1からわかるようにICP-OESの検出下限は鉛、ヒ素、タリウムに関して十分とはいえない。ICP-OESのマトリックス耐性はICP-MSより高いため、希釈率25倍にサンプルを調製して分析するが、それでもICP-MSと比べると分析上のマージンは小さい。

## 2.2 サンプル調製法

多くの医薬品はICP-OES, MSで分析するためのサンプル調製を必要とする。USP<233>は医薬品のサンプル調製法として1) 直接分析, 2) 水系か3) 有機溶媒に溶解する, 4) 適切な手段による目的元素の抽出, 5) 密閉容器中での酸分解, を示している<sup>3)</sup>。1)~3)の手法は簡単ではあるが、適用できるサンプルは限られる。USPは汎用性が高く、揮発性元素の回収がよい5)密閉容器マイクロ波分解を推奨している。JP16第一追補2.63においても、密閉容器マイクロ波分解法が難分解性試料に適した方法として示されている<sup>4)</sup>。分解法のレシピは各マイクロ波分解装置のメーカーが供給しているが筆者のところでは次の手順を使用している。

1. 0.2gの試料を分解容器に秤量する。1mL硝酸, 0.25mL塩酸, 0.5mL過酸化水素水, 3.5mL超純水を加える。
2. マイクロ波分解を行う：  
15分室温⇒15分で1200W, 150度まで加熱⇒10分間150度で保持⇒30分で室温までクールダウン。
3. 分解した試料を超純水で希釈し、50mLとする。

これで酸濃度として硝酸2%, 塩酸0.5%の希釈率250倍の分析サンプルが得られる。有機物が完全に分解すればこの分解液は透明である。色が残っていれば（黄色）分解は不完全で、分解の保持時間を延ばすなどの修正が必要となる。塩酸の添加はいくつかの元素の揮散を防ぎ、分析サンプルの安定化に有効である。これにより水銀、銀、プラチナグループ元素を安定に分析することができる（この塩酸濃度で200ppb程度までの銀は沈殿することなく安定に分析できる）。従来、塩素を含む多原子イオンが多くの分光干渉を起こすため、ICP-MS

用のサンプル調製では塩酸は避けるべきとされてきたが、今日ではコリジョンセルの普及によりこれらの干渉は問題ではなくなった。この分解法は多くの医薬品のサンプル調製に適用できるが、医薬品添加物として酸化チタンや酸化ケイ素を含む場合、完全分解にはフッ化水素酸（HF）もしくは硫酸（H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>）の添加が必要となる<sup>5)</sup>。また、サンプルによってはオスミウム（Os）の添加回収率が問題となる場合がある<sup>6)</sup>。Osは酸性雰囲気で揮発性の高い（かつ毒性の強い）酸化物となる。塩酸はOsを液中に安定化するのにも有効であり塩酸濃度を上げるか、もしくはOsの安定化には他のサンプル調製法も提案されている<sup>7)</sup>。またOs分析のみ他の元素とわけて、同位体希釈法により分析している受託分析会社もある。

## 2.3 定量分析法

内標準法による定量法が一般に使用される。日本薬局方（JP）では4点以上、USPでは3点での標準液による検量線が使用される。検量線の標準液はサンプルと同じ酸濃度で調製し、酸による信号の抑圧を打ち消す。このマトリックスマッチングはサンプル中の炭素濃度が高い場合には酸濃度だけでなく炭素濃度に対しても必要となる。ヒ素、水銀、アンチモン、セレン、金は炭素マトリックス濃度が高い場合に信号が増加することが知られている<sup>8)</sup>。炭素イオンとこれらの原子間のチャージ交換がプラズマ中で起こる、と説明されるが、問題はこのマトリックス効果は元素依存性を持つために通常の内標準元素では補正できないことである。サンプル調製に有機溶媒を使用した場合や分析サンプル中の有機物が多い場合は注意が必要で、炭素濃度に関してもマトリックスマッチングが必要となる。標準添加法を使用すれば完全なマトリックスマッチングとなるが、内標準法よりサンプル調製に時間がかかる。内標準元素は、サンプルと標準液に直接添加してもいいが、オンラインミキシングを用いるほうが簡単である。この場合、サンプルと内標準元素溶液が均質にまざるように注意する。内標準元素は測定元素と質量数の近い元素を選ぶ。これはマトリックスによる信号抑圧も装置状態の変化による信号のドリフトも、質量数依存性を持つことが多いためである。表1に分析に使用される同位体（の質量数）とその内標準元素の一例を示す。太字が第一に推奨される同位体で、分析時間を短くしたい場合にはこの質量数の同位体のみで分析するが、複数の同位体で分析すればクロスチェックにより分析の信頼性は向上する。

## 2.4 ICP-MSのチューニング

ICP-MSのメソッドで重要なのはプラズマ条件とコリジョンセルのチューニングである。それぞれ装置の非分光干渉（マトリックス効果）と分光干渉（スペクトラ

ム干渉)の抑制, 排除に影響する。

プラズマ条件は感度を最大にするのではなくプラズマ温度が十分高い, いわゆるロバストプラズマとなるようにチューニングする。このような熱いプラズマ条件は, 非分光干渉を軽減するとともに未分解試料による装置の汚染を防ぎ, メンテナンス頻度を下げるためにも好ましい。チューニングにはセリウム (Ce) の酸化物イオン生成比 ( $^{140}\text{Ce}^{16}\text{O}^+$  と  $^{140}\text{Ce}^+$  の信号強度の比) をプラズマ温度の指標として使用する。セリウムは酸化物イオンを生成しやすい元素で, その酸化物イオン生成比はプラズマ温度の目安となる。酸化物イオン生成比が小さいということはプラズマ温度が高く, サンプルの分解が促進することを示す。逆に生成比が大きいとプラズマ温度は低く, 未分解のサンプルによりサンプラーやスキマーのオリフィスの閉塞, イオンレンズの汚染, 信号ドリフト等の問題を生じる。プラズマ温度を上げるには, RF出力を上げる, キャリヤガス等トーチのインジェクターを流れるガス流量を下げる, サンプリング深さと呼ばれるトーチ~サンプラー間の距離を伸ばす等のチューニングを行う。プラズマ温度が上昇するとサンプル分解の点では利点があるが, 一方でプラズマ中でのサンプルの拡散や, アルゴンイオンの増加に伴うイオン間反発力の増加により感度が急激に減少する。酸化物イオン生成比  $\text{CeO}^+/\text{Ce}^+=1\sim 1.5\%$  程度にチューニングすれば良好な感度を保ちつつマトリックス耐性も高いプラズマとなる (JP 16 第一追補 2.63 の 4.2 には  $\text{CeO}^+/\text{Ce}^+\leq 3\%$  が望ましいとある)。最近の装置にはメーカーが推奨するプリセットのチューニングが準備されているものもあり, まずこれを使用するのが簡単である。

今日では四重極型 ICP-MS のほとんどに分光干渉を軽減, 除去する手段としてコリジョンセルが搭載されている。ヘリウムをセルガスに使用するコリジョンセルは, 分析元素の原子イオンと分光干渉している多原子イオンとの大きさの差を利用して干渉を取り除く<sup>9)</sup>。このためアプリケーションごとの最適化が必要なく, メーカーから与えられるプリセットされたセルチューニングをそのまま使用できる。コリジョンセルの二つの重要なパラメーターは, ヘリウムガス流量とエネルギー弁別電

圧で, ヘリウム流量を増加する, もしくはエネルギー弁別電圧を上げると分光干渉除去能が改善するが, 感度も低下する。医薬品中の金属不純物分析において問題となる分光干渉には,  $^{75}\text{As}$  に対する  $^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$ ,  $^{51}\text{V}^+$  に対する  $^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^+$ ,  $^{52}\text{Cr}^+$  に対する  $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^+$ ,  $^{78}\text{Se}^+$  に対する  $^{38}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^+$ ,  $^{111}\text{Cd}$  に対する  $^{95}\text{Mo}^{16}\text{O}^+$  等がある。図 1 に硝酸 2% + 塩酸 0.5% + メタノール 1% (炭素マトリックス) + 1 ppm モリブデン (Mo) を 2% 硝酸で調製した標準液を用いてセルガス無とセルガス有で定量した結果を示した。干渉補正式による補正も有効な場合もあるが, コリジョンセルはこのように高い分光干渉排除能をもつ上 (干渉補正式では桁を超える補正は誤差が大きい), 簡単である。表 1 には経口薬の PDE を示したが, 吸入薬の PDE はこれより低いため (特に As, V, Cr) コリジョンセルの利用は必須であろう。なお, チューニングの最適値は各メーカーの装置で異なるが参考として一例を表 2 に示した。

### 2.5 バリデーションについて

開発した分析法を実際の不純物分析に使用するにはその有効性を示すことが求められる。USP<233>では ICP-MS による医薬品中の無機不純物分析法のバリデーションとして次の検出能, 正確度, 精度, 堅牢性 (ruggedness) が基準を満たすことを求めている。なお分析法とはサンプル調製を含むため, 分析元素の添加は調製前に行う。

表 2 プラズマ条件とコリジョンセルチューニング

チューニングパラメータ		単位	値
プラズマ	RF 出力	W	1550
	キャリアガス流量	L/min	1.05
	メイクアップガス流量	L/min	0.0
	サンプリング深さ	mm	10.0
コリジョンセル	ヘリウムガス流量	mL/min	5.0
	イオンガイドバイアス電圧	V	-18.0
	エネルギー弁別電圧	V	5.0

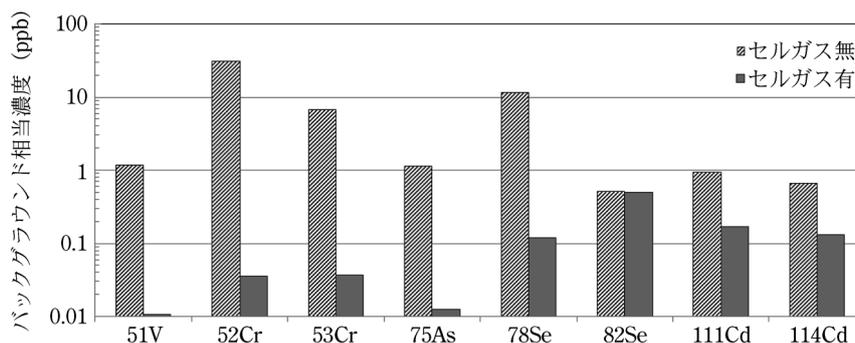


図 1 コリジョンセルによる分光干渉の低減

## 1. 検出能試験

被測定サンプルに分析元素をターゲット限界  $1J$  の濃度になるように添加し、3回の分析値の平均値が、 $1J$  の濃度の標準液の分析値の平均の  $100 \pm 15\%$  であること。また、 $0.8J$  の濃度となるように被測定サンプルに添加したサンプルの分析値の平均が、 $1J$  の濃度の標準液の分析値の平均以下になること。

## 2. 正確度試験

被測定サンプルに分析元素を  $0.5J$  から  $1.5J$  の濃度になるように添加し、3回の分析の平均で回収率がそれぞれ  $70 \sim 150\%$  以内であること。

## 3. 精度試験

6個の被測定サンプルに分析元素を目標濃度となるように添加し、その分析値の相対標準偏差が  $\pm 20\%$  以内であること。

## 4. 堅牢性試験

分析日、装置、分析者のいずれ（もしくはそのいくつか）を変え、精度試験を行い、計12個の分析値の相対標準偏差が  $\pm 25\%$  以内であること。

このほかにシステム適合性として、サンプル分析前後での分析装置のドリフトが規定されている。サンプルの分析前後で  $1.5J$  の濃度の標準液を分析し、その差が  $20\%$  以内に入っている必要がある。

### 2・6 装置校正とメンテナンス

バリデーション後、実際の分析に ICP-MS を運用していく上で装置校正とメンテナンスは重要である。校正後、装置の性能確認をする。所定の性能が出ない場合にはメンテナンスが必要となる。

#### 2・6・1 装置校正

プラズマ点火、装置の安定化後（通常  $20 \sim 30$  分程度）、分析を始める前に装置校正を行う。実際には毎日の校正は必要ないと思われるが、ソフトウェアによる自動校正で簡単なので日々の分析前に行うことを勧めたい。中にはプラズマ点火から装置校正、性能確認を自動実行する機能をもつ装置もあり、これらを有効に利用するとよい。定期的な装置校正ならびに装置性能の確認は、信頼性の高い分析を行う上で欠かすことはできない。また、装置性能をモニターすることでメンテナンス時期の判断をすることができる。ICP-MS で定期的な校正が必要なのは検出器、四重極質量分析器、トーチ軸そしてイオンレンズである。

検出器は、ゲイン（実際には検出器への印加電圧）とクロスオーバー係数の校正を行う。検出器のゲインは使用とともに徐々に低下する。このため定期的なゲイン校正が必要となる。クロスオーバー係数とは、広く使用されているデュアルステージ検出器のパルスカウントとアナログカウントをつなぐ係数で、 $P/A$  係数とも呼ばれ

る。 $P/A$  係数は、低濃度分析に使用されるパルスカウント領域と高濃度分析に使用されるアナログカウント領域を接続し、広いダイナミックレンジを実現する。アナログカウント領域での正確な分析には、定期的な  $P/A$  係数の校正がかかせない。 $P/A$  係数は質量数依存性がある（厳密には元素依存性もある）ため、複数の元素を含む溶液を導入し校正する。

四重極質量分析器は定期的に質量軸、分解能の校正をする。JP では質量軸誤差  $\pm 0.2$  amu 以内、質量分解能ピーク幅で  $0.9$  amu 以下（ $10\%$  高さ）が望ましいとされる。校正後に性能確認をして所定の範囲に入っていることを確認する。

トーチ位置調整は、トーチの洗浄等、トーチを交換した時に必要となる。トーチ交換においてもトーチ位置が大きくなることは少ないが、質量分析装置のオリフィス（サンプラー）にトーチの中心軸を正確に合わせることで最大の感度が得られる。

使用につれイオンレンズが汚れると最適電圧が変化するため、感度が最大となるように校正する。ICP-MS のチューニングパラメーター中でプラズマ条件とコリジョンセルに関するパラメーターは、マトリックス耐性や分光干渉の除去能に影響を与えるため、バリデーション後は変えるべきではない。イオンレンズの最適電圧はイオンレンズの汚れやオリフィスへの未分解サンプルの堆積により変化するため、感度が最大となるようにチューニングする。イオンレンズの電圧校正後も感度が低い場合はメンテナンスが必要である。

#### 2・6・2 メンテナンス

ICP-MS はサンプル、特に高濃度マトリックスを含むサンプルを分析すると徐々に性能が劣化し、装置校正後も感度がでない、信号がドリフトする、検出下限が悪化する、などの症状が現れる。ユーザーによる定期的なメンテナンスの必要な部分は1) 試料導入系、2) トーチなどのガラス部品、3) スキマー、サンプリングコーンと呼ばれる小さなオリフィスをもつ二つのコーン、ならびに4) スキマーの直後に配置されるイオンレンズである。試料導入系ではペリスタリックポンプのチューブ、およびサンプルチューブを交換する。忘れがちなのがオートサンプラーのプロンプで、これも長期使用すると元素の吸着が起こる。ネブライザー、トーチ、スプレーチャンバー等は分析元素のバックグラウンドが高いなど、メモリーが見られる場合に洗浄する。スキマー、サンプリングコーンのオリフィスに未分解試料が堆積すれば感度低下がおこるため、洗浄して取り除く。イオンレンズの洗浄の頻度は高くはないが、上記のメンテナンスと装置校正後も感度が回復しない場合は、イオンレンズが汚れている可能性がある。メンテナンス方法に関しては各分析機器メーカーのマニュアルを参照していただ

きたい。

### 3 まとめ

近年の医薬品中の無機不純物のガイドラインとその分析法の改訂により、この分野での ICP-OES, MS の使用の増加が予想される。本報では、より広い医薬品の分析に適用できる観点から、低い検出下限を持つ ICP-MS に話をしぼり、新しい規制の簡単な説明から実分析を行う上での留意点まで、幅広くなるべく全体像をつかめるように考慮して解説した。装置の高機能化と使用分野の拡大に伴い、ユーザー側にはボタン一押しで誰でも分析ができる装置をという要求があり、またメーカー側にも分析に関する知識無しで使用できる機器であるかのような錯覚をおこさせるフレーズも見られるが、信頼度の高い分析値を得るには知識に裏付けられた正しい操作がいまだ必須である。メーカーによるプリロードされたメソッドや自動校正など多くの自動化ツールが搭載されつつあるが、それは単に自動化、省力化であって、分析者はそれが何をしているか理解して使用するべきであろう。本報がこれらの機器分析に携わる方々の参考に少しでもなれば著者として嬉しく思う。

#### 文 献

- 1) www.usp.org USP (232) ELEMENTAL IMPURITIES-

#### LIMIS

- 2) 薬食審査発 0930 第 4 号 (平成 27 年 9 月 30 日) 医薬品の元素不純物ガイドラインについて
- 3) www.usp.org USP (233) ELEMENTAL IMPURITIES-PROCEDURES
- 4) 日本薬局方第 16 改正 (JP16) 第一追補 一般試験法 2.63
- 5) G Li, D Schoneker, K L Ulman, J J Sturm, L M Thackery, J F Kauffman : *J. Pharm. Sci.*, **104**, 4197 (2015).
- 6) K V Hoecke, C Catry and F Vanhaecke : *J. Anal. At. Spectrom.*, **27**, 1909 (2012).
- 7) C Venzago, M Popp, J Kovac and A Kunkel : *J. Anal. At. Spectrom.*, **28**, 1125 (2013).
- 8) How to improve analytical figures of merit of hard-to-ionize elements in ICP-based techniques : *Spectroscopy*, **31**, 48 (2016).
- 9) E McCurdy, G Woods : *J. Anal. At. Spectrom.*, **19**, 607 (2004).



杉山尚樹 (Naoki SUGIYAMA)

アジレント・テクノロジー・インターナショナル株式会社 (〒192-0033 東京都八王子高倉町 9-1)。東京工業大学機械物理専攻修了。《現在の研究テーマ》LA-ICP-MS による各種マテリアル中不純物の定量分析。《趣味》フットサル、テニス、トレッキング、釣り、そして ICP-MS。

E-mail : naoki\_sugiyama@agilent.com

#### レンタカー特別割引のご案内

レンタカーの本会会員特別割引を実施しておりますので、ご利用ください。ご不明な点は、ニッポンレンタカーサービス(株)ワンデイスキップ担当窓口 (TEL : 03-3468-7131) まで直接お問い合わせください。

利用方法 (ご利用日の 2 時間前まで予約できるインターネット限定商品です。)

レンタカーの予約から支払いまですべてインターネットでできます。

下記アドレスにアクセスして ID・PASSWORD を入力してください。

<https://www.nipponrentacar.co.jp/ods/>

ID : 7441 PASSWORD : 38145

(初回のみ、お客様情報登録が必要です。)

#### 主なクラス (車種) と割引料金

S-S (フィット, スイフト)	6,480 円
S-A (カローラ, ラティオ)	7,344 円
S-W (ウィングロード, カローラフィールダー)	8,316 円
S-C (マーク X, ティアナ)	10,692 円
S-D (クラウン)	16,200 円
W-H (ストリーム, ウィッシュ (7 人乗))	9,720 円

W-A (ステップワゴン (8 人乗)) 13,608 円

なお、料金等は変更される場合があります。