

# Application Note

島津アプリケーションノート No.6 (医薬)



Medicine

## ICP発光分光分析法による医薬品中残留触媒の分析

谷口 理  
T.TANIGUCHI

河野 慎一  
S.KAWANO

山口 忠行  
T.YAMAGUCHI

永田 淳  
J.NAGATA

西根 勤  
T.NISHINE

### 1.はじめに

医薬品には有効成分以外に、物性改善のために意図的に添加される成分や、出発原料や中間体、副生成物、分解生成物、また製造工程に由来する試薬や溶媒などの非意図的に生成、混入、残留する成分も含まれています。医薬品合成に用いられる金属触媒もそのひとつで、新規医薬品原薬中の不純物に関するガイドライン(医食審発第 1216001 号, 平成 14 年 12 月 16 日)<sup>1)</sup>では、金属触媒は無機不純物として分類され、日本薬局方収載の試験方法又は適切な方法で検出し、開発段階で評価することとなっています。一方、海外に目を向けると、欧州医薬品審査庁(European Medicines Agency; EMEA)は、2008 年 2 月 21 日に医薬品製造工程に由来する金属触媒や金属試薬の残留量を規制するガイドライン<sup>2)</sup>を発行し、14

種類の金属に対して許容限度値を設定しました。また、米国薬局方(United States Pharmacopeia; USP)でも、その刊行物である Pharmacopeial Forum 34(5)(2008 年 9-10 月)<sup>3)</sup>に、新たな金属試験法として 31 種類の金属に対する許容限度値とその試験方法を提案しており、医薬品中の金属不純物に対する関心が近年高まってきています。金属元素の分析には、原子吸光度法や ICP 発光分光分析法や ICP 質量分析法がよく用いられますが、多元素の分析では迅速性や簡便性といった点で ICP を用いた分析法が便利です。ここでは、医薬品中の残留触媒の分析として EMEA のガイドラインで対象となっている金属 14 種類について、ICP 発光分光分析法を用いて分析した例をご紹介します。

## 2. ICP発光分光分析法



島津マルチタイプICP発光分光分析装置ICPE-9000

### 2-1 ICPとは

ICPとは、高周波誘導結合プラズマ(Inductively Coupled Plasma)のことを言います。図1にプラズマの原理図を示します。プラズマトーチと呼ばれる同軸の三重管(通常、石英製)の外側に高周波コイルが取り付けられており、このコイルに27.12MHz(または40.68MHz)の高周波電流(I)を流すとプラズマトーチ内に磁界(H)が発生し、電磁誘導によって電界が発生します。このプラズマトーチ内にアルゴンガス(Ar)を流し、高圧放電を発生させると、アルゴンガスの電離が起こり、プラズマ(この場合、アルゴンガスプラズマ)が生成します。プラズマは電離気体ともいわれており、そこでは陽イオンと電子が同数あり電氣的に平衡を保った状態で存在しています。ICP装置に使用されるプラズマは27.12MHz(または40.68MHz)という高周波電流を用いることで、試料が導入される中心部が周辺部より温度の低い、ドーナツ構造をしています。プラズマ中心部の温度は、6000~8000Kに達するほどの高温状態です。図2にICPの外観を示します。

このプラズマの中心部分にキャリアーガスとともに試料を噴霧して導入すると、試料中に含まれる元素はプラズマからエネルギーを得て励起状態となりますが、安定な低いエネルギー準位に戻る際、そのエネルギー差を光として放出(発光)します。図3に発光分析の原理図を示します。この光は元素に固有の波長を持っていることから、このスペクトルを検出することで、元素分析を行なうことができます。このようにICPを励起源とした発光分光分析法をICP発光分光分析法(Inductively Coupled Plasma Atomic (Optical) Emission Spectrometry, ICP-AESまたは

ICP-OES)と呼んでいます。

また、ICPでは、導入された試料中元素は効率よくイオン化されます。このイオンは元素固有の質量数を持つことから、この質量スペクトルを測定することにより、試料中の元素の存在や濃度を知ることができます。このようにICPをイオン源とした質量分析法を、ICP質量分析法(Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, ICP-MS)と呼びます。

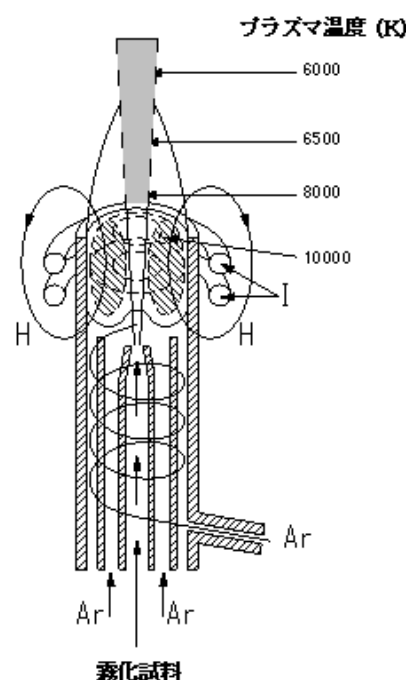


図. 1 プラズマ原理図

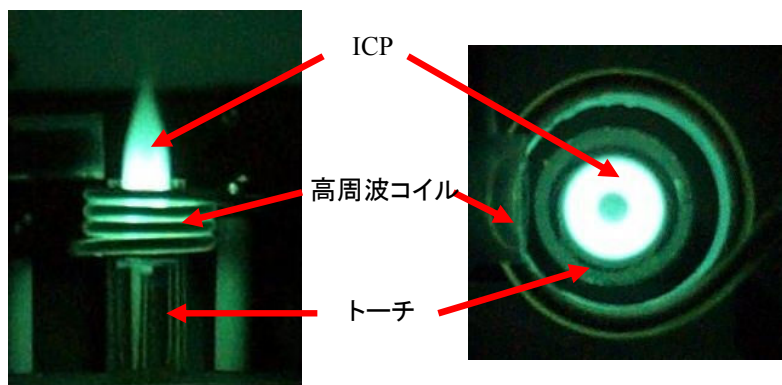


図. 2 ICPの外観(左;真横から見た写真, 右;上から見た写真)

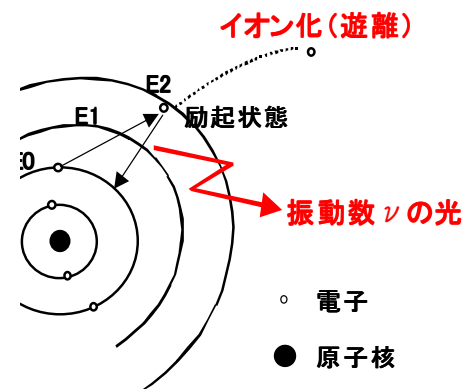


図. 3 発光分析の原理

## 2-2 ICP発光分光分析装置

試料中の元素を発光させる手段として高周波誘導結合プラズマを用いているのが ICP 発光分光分析装置(ICP-AES)です。発光スペクトルは、そのままでは様々なスペクトルが混ざったままなので、分光器を用いて、元素ごとのスペクトルに分けてから検出器により検出します。また、発光分光分析に使用する分光器は、多数のスペクトル線を分離しなければならないので、吸光光度法や原子吸光光度法に使われる分光器に比べて、高性能な分光器が使用されています。

ICP-AES は、分光器の種類によってシーケンシャルタイプとマルチタイプに大きく分類されます。シーケ

ンシャルタイプでは、一般に平面回折格子を用いた分光器が用いられ、回折格子の角度とスリットにより波長の走査を行い、光電子増倍管(photo multiplier tube:PMT)で検出します。従って、測定する波長数が多いとそれだけ測定時間が長くなりますが、波長分解能が高いことが特徴です。一方、マルチタイプは、エシェル型回折格子とプリズムを組み合わせた分光器で、発光スペクトルを2次元に展開し、CCD(Charge Coupled Device)等の検出器で検出します。多元素を一斉に分析できる点が特徴です。マルチタイプ分光器の構造を図4に示します。

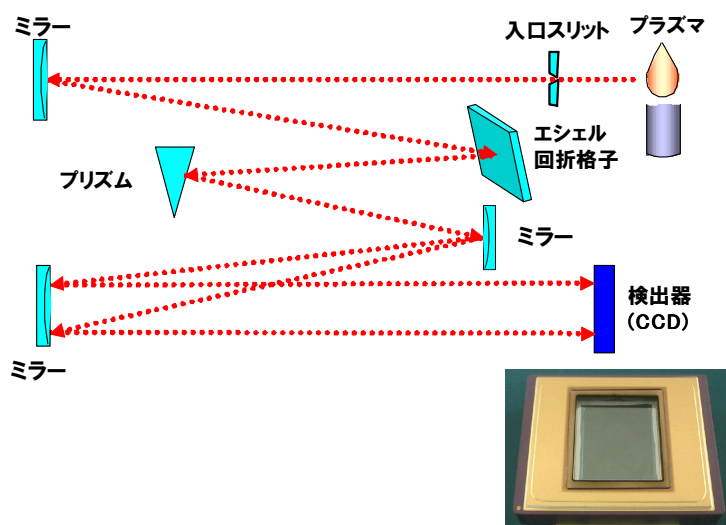


図. 4 マルチタイプ分光器の構造(ICPE-9000の光学系)

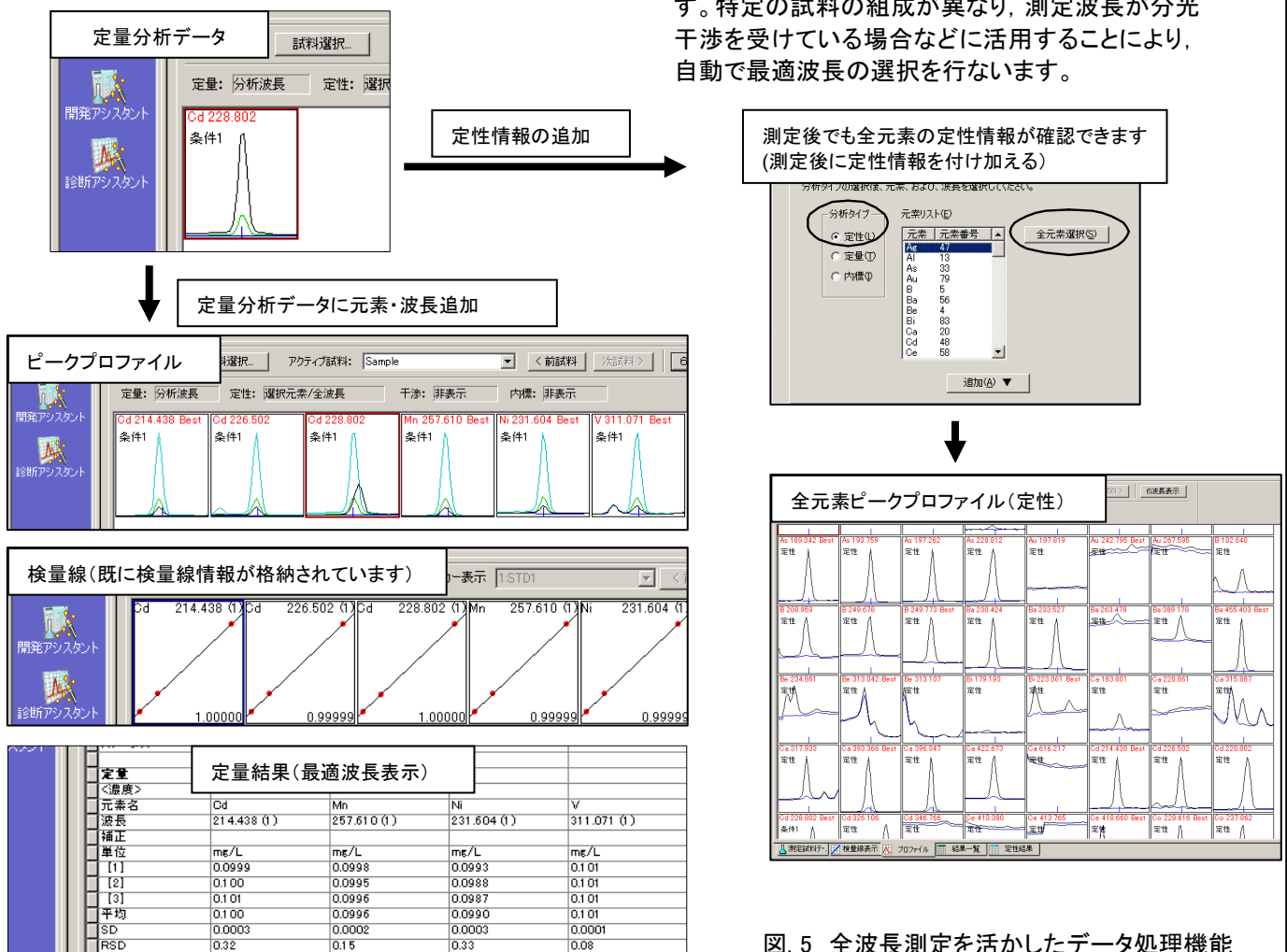
## 2-3 島津のICP-AES

島津の ICP-AES のラインアップにはシーケンシャルタイプとマルチタイプの両タイプありますが、医薬品の残留触媒などを測定するには、多元素を迅速に測定できるマルチタイプの ICP-AES-9000 が有効です。ICPE-9000 の特長として大きく以下の4つがあげられます。

### (1) 全波長測定

発光分光分析法では、元素ごとに多くのスペクトル線が放出されるため、複数の元素が存在する試料においては、スペクトル線が重なりあうこともあります(これを分光干渉と呼びます)。従って、測定の信頼性を上げるには、複数の波長を確認する必要があります。ICPE-9000 は検出器に 1 メガピクセルの最新の CCD システムを採用しています。この CCD システムは分解能が高いうえ、全波長情報が常に記録されることから、1 回の測定で豊富な情報を得ることができます。以下に、主な特長を示します。

1. 測定後でも波長追加ができます。(図 5)  
測定後でも波長を追加検討ができるので、測定前に最適波長を決めておく必要はありません。
2. 測定後でも元素追加ができます。(図 5)  
多元素混合標準試料が測定されていれば、測定後でも設定し忘れていた元素や、測定後に必要になった元素について、定量値を得ることができます。
3. 測定後でも定性データが得られます。(図 5)  
すべての元素(波長)情報が記録されていますので、定量分析のみを行なったデータからも全元素(71 元素)の定性データを読み出すことができます。
4. 診断アシスタントにより、測定データを自動確認できます。(図 6)  
診断アシスタントの機能の一例を図 6 に紹介します。特定の試料の組成が異なり、測定波長が分光干渉を受けている場合などに活用することにより、自動で最適波長の選択を行ないます。



Cdは複数波長で測定されていますが、最適な波長が自動選択されます。  
(各波長の結果も表示もできます)

図 5 全波長測定を活かしたデータ処理機能  
(定量分析したデータについて測定後に、元素・波長追加、全元素の定性データを追加)

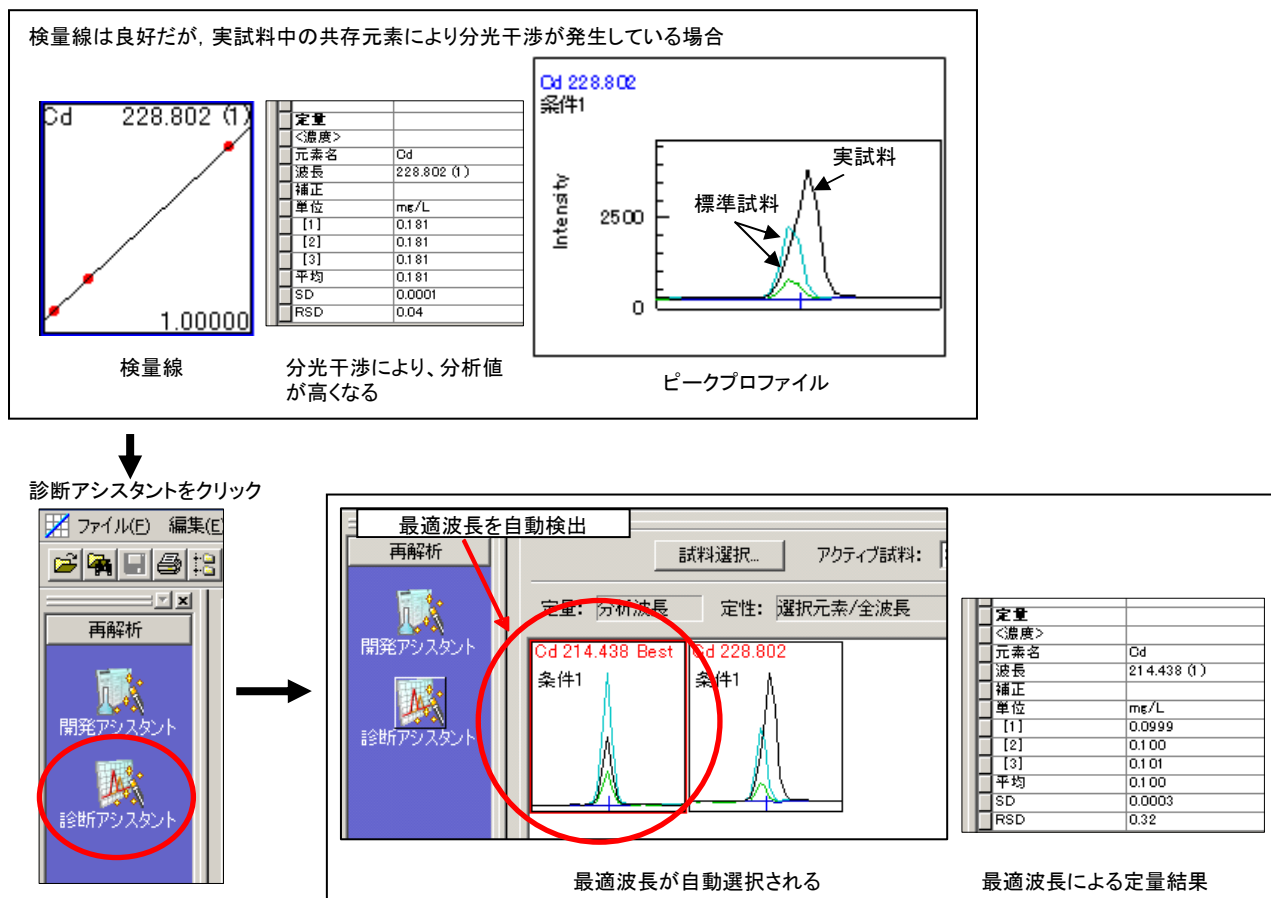


図. 6 診断アシスタントによる分析データの再解析例

## (2) 有機溶媒測定

多くの ICP 装置では、有機溶媒試料を測定する場合、プラズマトーチに酸素を導入し、プラズマトーチ先端部への炭素の析出を抑制しています。しかし、島津の ICP 発光分光分析装置は、炭素が析出しにくいタイプのトーチを採用しており、また島津 ICPE-9000 は、トーチを縦方向に配置することにより、トーチ内に試料が残留しにくい構造です。このため、ジメチルスルホキシド(DMSO)、メタノール、エタノールなどの有機溶媒測定のための酸素導入を必要としません。

## (3) 真空分光器による真空紫外領域の測定

ICP 発光分光分析法では、P、S のように 190 nm 以下の波長領域に、高感度あるいは分光干渉の少ない波長を持つ元素の測定が可能です。しかし、この波長領域は分光器内に空気が存在すると、空気中に含まれる酸素によって発光スペクトルが吸収されてしまい検出することができません。このため、この波長域の分析には、分光器内部に高純度ガスを流すガスパージ方式の分光器か、分光器内部を真空にする真空分光器が用いられます。ガスパージ方式の

場合、酸素除去という目的から、また光学系の劣化防止という点から、使用するガスは通常 99.999%以上の高純度ガスが必需です。さらに、装置の安定のためにはパージガスを測定時のみではなく、待機時にも流す必要があるため、ランニングコストが高くなります。

島津 ICPE-9000 は真空分光器を採用することにより空気を除去しているため、分光器内にガスを流す必要がありません。そのため、安定性に優れ、ランニングコストを低く抑えることができます。

## (4) 横方向／軸方向観測

ICP 発光分光分析の高感度化の方法として、プラズマの軸方向観測があります。軸方向のプラズマ光を観測すると、プラズマの高温部分を通ることなくスペクトルを観測することができるため、アルゴン起因の光によるバックグラウンドを下げて高感度に測定することが可能です。島津 ICPE-9000 は、軸方向観測と横方向観測を自動切換えで使うことができるので、濃度差が大きい元素を測定する場合でも、簡単に分析を行うことができます。

### 3. 分析例

#### 3-1 EMEAガイドライン

欧州医薬品審査庁 (European Medicines Agency: EMEA) が 2008 年 2 月 21 日に出したガイドラインで示されている許容量および許容濃度の一覧を表 1 に示します<sup>2)</sup>。このガイドラインでは、人に対する健康リスクの観点から 14 種類の金属を Class1~3 の 3 つのカテゴリに分類しており、さらに Class1 (人発癌性または他の深刻な毒性要因となる可能性が疑われる金属) は 3 つのサブカテゴリに分類されています。そして、各カテゴリに対し、経口、非経口、吸入の

各経路で投与した場合の許容量が示されています。ここでは、許容値として ICH Q3C (医薬品の残留溶媒ガイドライン)<sup>4)</sup> に倣い、医薬品としての最大許容用として PDE (Permitted Daily Exposure, 単位は  $\mu\text{g}/\text{day}$ ) を用いています。濃度許容値は、1 日あたりの製剤としての投与量を 10 g と仮定して各 PDE から算出されています。なお、1 日あたりの投与量が 10 g を超える場合は、対象は製剤ではなく、製剤中における有効成分中の許容値として適用されます。

表1 EMEAガイドラインにおける分類と各元素の許容量

		Oral exposure		Parenteral exposure		Inhalation exposure
		PDE ( $\mu\text{g}/\text{day}$ )	Concentration (ppm)	PDE ( $\mu\text{g}/\text{day}$ )	Concentration (ppm)	PDE (ng/day)
Class1A	Pt,Pd	100	10	10	1	Pt:70
Class1B	Ir,Rh,Ru,Os	100	10	10	1	
Class1C	Mo,Ni,Cr,V	250	25	25	2.5	Ni:100 Cr(VI):10
Class2	Cu,Mn	2500	250	250	25	
Class3	Fe,Zn	13000	1300	1300	130	

#### 3-2 原薬の分析

原薬中の残留金属触媒として EMEA ガイドラインの 14 元素を測定しました。試料には、市販研究用試薬を用いました。今回は、酸分解よりも簡便で汚染の少ない有機溶媒による試料前処理を行い、試料溶媒には溶解性の高い DMSO を用いました。試料は、0.5 g を秤りとり、DMSO 溶媒で溶解し 5 mL に定容しました (10 倍希釈)。このとき、内標準元素として Y (イットリウム) を 0.1 mg/L になるように添加しました。また、添加回収試験溶液として、トシル酸トスフロキサシンについて同様に希釈した試料に、標準試料溶液を 1.0 mg/L になるように添加した試料 (添加回収試験溶液) を作成しました。検量線試料溶液として、単元素標準溶液を DMSO 溶媒で希釈し調製を行いました。検量線試料溶液にも内標準元素として Y を 0.1 mg/L になるように添加しました。

表 2 に分析条件を示します。また、表 3 に各原薬の分析結果を、表 4 にトシル酸トスフロキサシンを用いた添加回収試験結果を示します。全ての元素につ

いて、98~101%と良好な回収率が得られました。検量線試料溶液の測定結果から算出した検出下限 ( $3\sigma$ ) は、全ての元素で Oral Exposure の許容値の 1/10 以下の値であることが確認できます (表 5)。

次に、検量線試料溶液 (濃度 1.0 mg/L) を用い、2 時間の連続測定における安定性を確認しました。各元素の 2 時間測定での RSD (相対標準偏差) は 1% 以下で良好な結果が得られています。結果を図 7 に示します。また、トシル酸トスフロキサシン添加回収試験溶液を用い、3 日間の日間再現性試験を行った結果を表 6 に示します。日間再現性試験では、毎回検量線を作成し定量を行いました。各元素の 3 日間の RSD は 1% 程度で良好な再現性が得られています。

最後に、各元素のスペクトル線プロファイル (検量線試料溶液 (0, 0.1, 1.0 mg/L), トシル酸トスフロキサシン, およびその添加回収試験溶液) を図 8 に示します。

表2 ICP-AESの分析条件

分析装置	ICPE-9000
高周波出力	1.3 kW
プラズマガス流量(Ar)	18 L/min
補助ガス流量(Ar)	1.4 L/min
キャリアーガス流量(Ar)	0.70 L/min
試料導入	同軸ネブライザー
チャンバー	二重管形
観測方法	軸方向

表3 原薬(3種)の分析結果(試薬粉末中濃度; µg/g)

元素名	Cr	Cu	Fe	Ir	Mn	Mo	Ni	Os	Pd	Pt	Rh	Ru	V	Zn
トシル酸スフロキサシン	0.11	0.05	4.37	<	0.03	<	<	<	<	<	<	<	<	0.06
ペナゼプリル塩酸塩	0.36	0.52	5.17	<	0.07	<	<	<	<	<	<	<	<	1.12
カプトプリル	0.37	0.26	0.52	<	0.10	<	<	<	<	<	<	<	<	14.4

< ; 検出下限未満

表4 トシル酸スフロキサシンの添加回収試験結果(溶液中濃度; mg/L)

元素名	Cr	Cu	Fe	Ir	Mn	Mo	Ni	Os	Pd	Pt	Rh	Ru	V	Zn
添加前	0.011	0.005	0.437	<	0.003	<	<	<	<	<	<	<	<	0.006
添加後	0.997	0.994	1.423	0.978	0.987	1.010	0.991	1.003	0.981	0.996	0.978	0.977	1.000	0.989
回収率(%)	99	99	99	98	98	101	99	100	98	100	98	98	100	98

< ; 検出下限未満

表5 原薬分析における検出下限(3σ)  
(上段: 試薬粉末中濃度(µg/g), 下段: 溶液中濃度(mg/L))

元素名	Cr	Cu	Fe	Ir	Mn	Mo	Ni	Os	Pd	Pt	Rh	Ru	V	Zn
検出下限	0.03	0.04	0.007	0.07	0.007	0.03	0.07	0.08	0.02	0.3	0.1	0.04	0.007	0.04
	0.003	0.004	0.0007	0.007	0.0007	0.003	0.007	0.008	0.002	0.03	0.01	0.004	0.0007	0.004

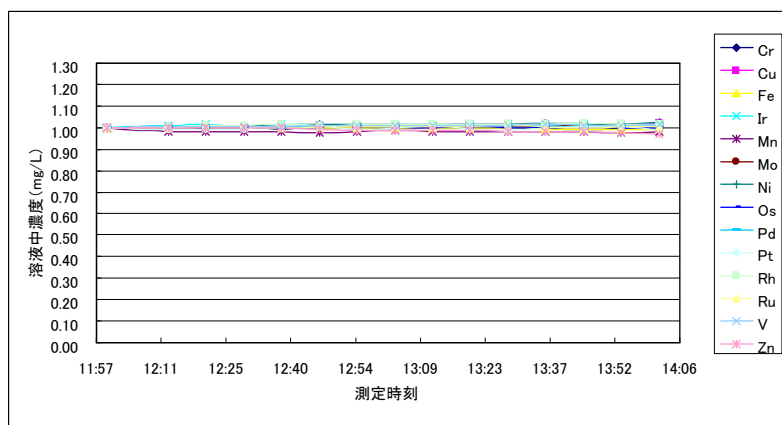


図7 2時間の連続測定における安定性

表6 3日間の日間再現性結果(単位: mg/L)

元素名	1日目	2日目	3日目	RSD(%)
Cr	1.00	1.00	1.02	1.18
Cu	0.99	1.00	0.99	0.46
Fe	1.42	1.43	1.43	0.19
Ir	0.98	0.98	0.97	0.60
Mn	0.99	0.99	1.00	0.89
Mo	1.01	1.01	1.01	0.26
Ni	0.99	0.99	0.99	0.24
Os	1.00	1.00	1.01	0.66
Pd	0.98	0.98	0.99	0.85
Pt	1.00	1.00	1.02	0.96
Rh	0.98	0.97	0.97	0.55
Ru	0.98	0.98	1.00	1.35
V	1.00	1.00	1.00	0.23
Zn	0.99	0.98	0.97	0.87

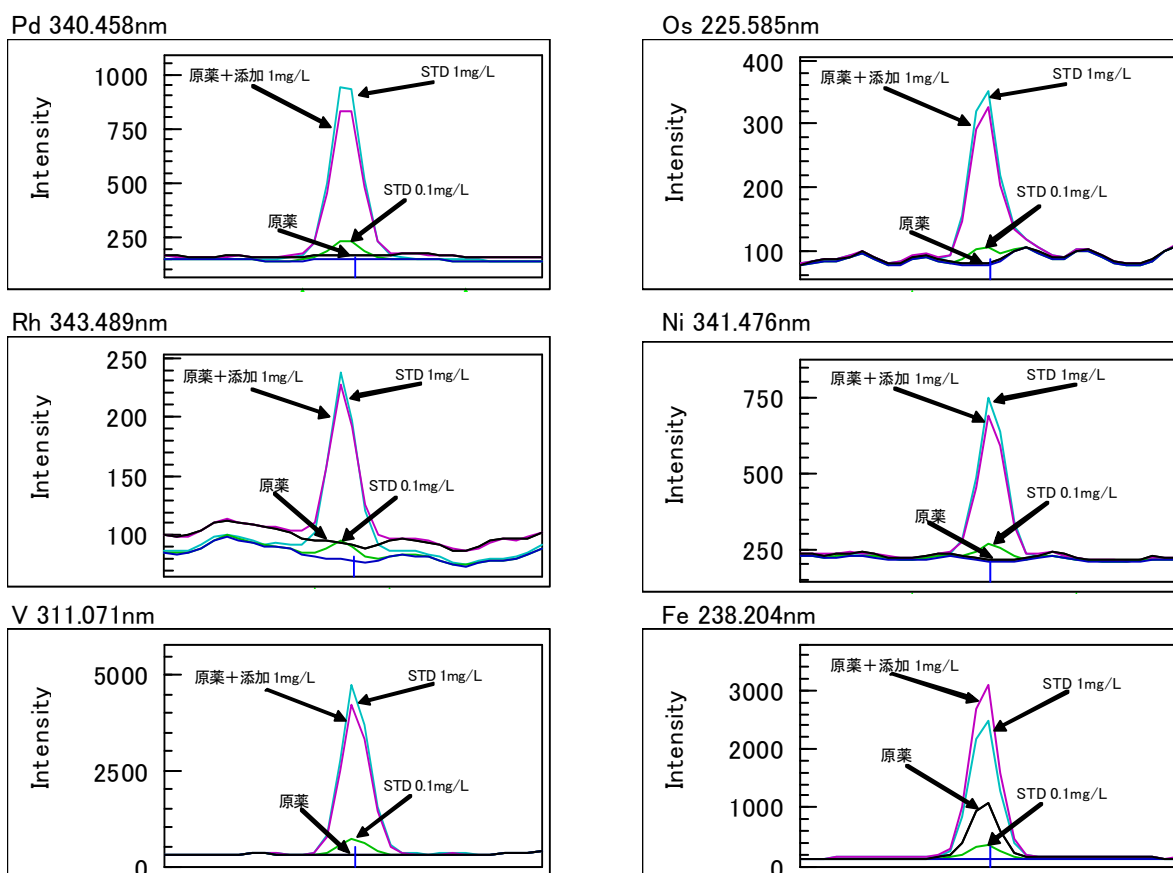


図8 各元素のスペクトル線プロファイル  
(検量線試料溶液(0, 0.1, 1.0 mg/L), 原薬, 添加試料(原薬+標準試料 1.0 mg/L))

## 4. まとめ

今回、医薬品中の残留触媒の分析として、原薬中の EMEA ガイドライン 14 元素を ICP 発光分光分析法を用いて分析した例を、ICP 発光分光分析装置の概要を交えてご紹介しました。現在、日本薬局方(第 15 改正)では、医薬品中の金属分析法としては、重金属試験法としての比色法以外には原子吸光法のみが採用されており、他の金属分析法は採用されていません。しかし、近年の海外における医薬品中金属試

験をとりまく状況を見ると、近い将来 ICP 分析法が医薬品分析において必要不可欠な分析法となることは確実です。今回ご紹介しましたように、ICP 発光分光分析法は多元素の分析に対する最適な分析手法のひとつであり、前処理法を選ばない島津 ICP-AES は医薬品中金属分析に対し、最高のパフォーマンスを発揮します。島津 ICP-AES が必ず皆様の業務のお役に立つことをお約束します。

## 参考

- 厚生労働省医薬品局審査管理課長: 新有効成分含有医薬品のうち原薬の不純物に関するガイドラインの改訂について、医薬審発第 1216001 号(平成 14 年 12 月 16 日)
- COMMITTEE FOR MEDICAL PRODUCTS FOR HUMAN USE(CHMP): GUIDELINE ON THE SPECIFICATION LIMITS FOR RESIDUES OF METAL CATALYSTS OR METAL REAGENT(Doc. Ref. EMEA/CHMP/SWP/4446/2000), London(21 February 2008)
- USP Ad Hoc Advisory Panel on Inorganic Impurities and Heavy Metals and USP Staff: "General Chapter on Inorganic Impurities: Heavy Metals," stimuli to the revision process, Pharmacopeial Forum 34 (5), 1345-1348 (Sept.-Oct. 2008).
- INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE : ICH HARMONISED TRIPARTITE GUIDELINE, IMPURITIES: GUIDELINE FOR RESIDUAL SOLVENTS Q3C(R3), Step 4 version

\* 本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。

初版発行 2010年3月