

Application News

No. X271

X線分析

EDXによる原薬のICH Q3D 元素不純物分析

医薬品の元素不純物ガイドライン (ICH Q3D)¹⁾では、毒性が懸念される 24 元素について残留量の管理が求められています。米国および欧州では 2016 年 6 月より、日本では 2017 年 4 月より新製剤に適用されています。既存製剤については、米国では 2018 年 1 月から、欧州は 2017 年 12 月から適用が開始されています。

元素不純物の分析法としては誘導結合プラズマ発光分光分析法 (ICP-AES)²⁾および誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) が推奨されていますが、適切な代替法がある場合はその使用が認められています。³⁾ 米国薬局方 USP<735>⁴⁾を参考にその代替方法として、蛍光 X 線分析法の妥当性を検証しました。

装置は EDX-7000 とそのオプションの「医薬品不純物分析メソッドパッケージ」を用いました。試料は 2 種類の原薬粉末を用い、水溶液標準試料による検量線法にて定量分析しました。結果は良好で、EDX が医薬品の元素不純物管理に利用できる可能性を確認できました。

T. Nakao, K. Hori

■ 元素

医薬品不純物メソッドパッケージは、ICH Q3D で定める元素のうち、管理重要度の高い以下 12 元素が分析可能です。

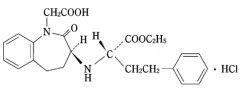
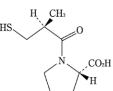
- Class1 : As, Cd, Hg, Pb
- Class2A : V, Co, Ni
- Class2B : Ru, Rh, Pd, Ir, Pt

■ 評価試料

以下 2 種類の原薬粉末を使用しました。詳細と最大一日摂取量を表 1 に示します。

- Benazepril Hydrochloride
- Captopril

表 1 評価試料と構造式

名称	Benazepril Hydrochloride	Captopril
組成式	C ₂₄ H ₂₈ N ₂ O ₅ · HCl	C ₉ H ₁₅ NO ₃ S
分子量	460.95	217.29
構造式		
最大一日摂取量	10 mg/day	150 mg/day

■ 管理値の考え方

(1) 許容限度濃度の設定

ICH Q3D では各元素について 1 日の許容暴露量 (Permitted Daily Exposure : PDE) が定められており、製剤またはその構成成分中の元素不純物を評価する際には、PDE 値を濃度へ換算する必要があります。換算方法には、オプション 1、2a、2b、3 があります。

今回の評価では、より低濃度領域でのバリデーションとなるよう、最大一日摂取量を表 1 の規定値よりも多い 300 mg と仮定しました。また、PDE 値は経口製剤の値を、換算法はオプション 2b を使用しました。

(2) 添加濃度の設定

ICH Q3D では PDE 値の 30 % が管理閾値と定義されていることから、(1)の許容限度濃度の 30 %を管理値としました。添加濃度は USP<735>に従い、管理値の 1/2 としました。これら関係を表 2 に示します。

表 2 PDE 値と添加濃度

	PDE 値 (A)	許容限度濃度 (B)=(A)÷0.3	添加濃度 (B)×0.3÷2
元素\単位	μg/day	μg/g	μg/g
Pb, Cd	5	16.7	2.5
As	15	50	7.5
Hg	30	100	15
Co	50	167	25
V, Ir, Pt, Ru, Rh, Pd	100	333	50
Ni	200	667	100

■ 検量線試料

以下 2 点の混合標準液および超純水を用い、各 5 点の検量線試料を作製しました。濃度をそれぞれ表 3、表 4 に示します。

SPEX 社製混合標準液

- XSTC-2046
- USP-TXM4

表 3 XSTC-2046 検量線試料濃度 [μg/mL]

	ブランク (超純水)	STD1	STD2	STD3	STD4
希釈倍率		10	5	2	1
Pb, Cd	0	0.5	1	2.5	5
As	0	1.5	3	7.5	15
Hg	0	3	6	15	30
Co	0	5	10	25	50
V	0	10	20	50	100
Ni	0	20	40	100	200

表 4 USP-TXM4 検量線試料濃度 [μg/g]

	ブランク (超純水)	STD1	STD2	STD3	STD4
希釈倍率		10	5	2	1
Ir, Pt, Ru, Rh, Pd	0	10	20	50	100

■ 試料前処理

(1) 添加試料の調製

添加濃度になるように、評価試料に原子吸光用標準液または As 高含有セルロース粉末を添加し、均一に混合して添加試料を調製しました。

(2) 試料のセッティング

図1のように、ポリプロピレンフィルムを張った試料容器に試料を入れて測定しました。



図1 測定試料

■ バリデーション結果

検証は、真度 (USP<735>: ACCURACY)、精度 (PRECISION)、特異性 (SPECIFICITY)、定量限界 (QUANTITATION LIMIT)、直線性 (LINEARITY)、頑健性 (ROBUSTNESS) について行いました。

結果ならびに USP<735>バリデーションの要約を表5に、各項目の結果をそれぞれ表6~10および図2に示します。

表5 USP<735>バリデーションと検証結果の要約

項目	方法	適合基準	結果	判定
真度	・ 検量線法による定量分析 ・ 添加回収試験	回収率 70.0~150.0 %	回収率 92~108 %	適合
精度	・ 添加試料 3 個 ・ 各個線返し 3 回定量分析 ・ 計 9 個の相対標準偏差	相対標準偏差 (RSD) ≤20.0 %	相対標準偏差 (RSD) ≤5.8 %	適合
特異性	・ 定量スペクトルはマトリックス成分のスペクトルと明白に分離区別	真度要件を満たすこと	・ 定量スペクトルはマトリックス成分と分離 ・ 真度を満たす	適合
定量限界	・ 無添加試料 6 回線返し定量分析 ・ 標準偏差の 10 倍を推定値とする	管理値の 50 %以下で真度、精度要件を満たすこと	・ 推定値 <管理値の 50 % (=添加濃度) ・ 真度、精度を満たす	適合
直線性	・ 検量線試料 5 点 ・ 最小二乗法により回帰直線を求める	相関係数 R 0.99 以上	相関係数 R ≥0.9941	適合
頑健性	・ 試料量を実験パラメータとする ・ 2.0g を基準として 1.0g、0.5g、0.3g に変更	実験パラメータの変更後の定量値の変化率が ±20.0 %以内	定量値変化率 -12.0~+8.3 %	適合

表6 真度

[μg/g]

Class	Class1				Class2A			Class2B				
	As	Hg	Pb	Cd	V	Co	Ni	Ir	Pt	Ru	Rh	Pd
元素 添加濃度	7.5	15	2.5	2.5	50	25	100	50	50	50	50	50
Benzapril Hydrochloride 添加試料	7.2	14.9	2.5	2.6	50.8	25.5	104.2	51.0	49.6	53.0	51.6	50.9
無添加試料	<0.5	<0.3	<0.6	<1.2	<2.9	<1.4	<0.7	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
回収率 [%]	96	99	102	104	102	102	104	102	99	106	103	102
Captopril 添加試料	7.2	13.8	2.7	2.5	46.2	23.0	94.5	47.9	45.9	52.6	52.4	51.2
無添加試料	<0.5	<0.4	<0.7	<1.2	<3.4	<1.7	<0.8	<0.6	<0.6	<0.4	<0.4	<0.7
回収率 [%]	96	92	108	100	93	92	95	96	92	105	105	102

表7 精度

[%]

元素		As	Hg	Pb	Cd	V	Co	Ni	Ir	Pt	Ru	Rh	Pd
Benzapril Hydrochloride	RSD	0.5	0.4	4.8	5.8	0.7	0.5	0.3	0.4	0.7	0.8	0.7	0.8
Captopril	RSD	2.3	0.8	4.6	5.5	2.7	1.8	1.1	1.4	0.5	0.6	0.9	0.5

表8 定量限界推定値

[μg/g]

元素	As	Hg	Pb	Cd	V	Co	Ni	Ir	Pt	Ru	Rh	Pd
Benzapril Hydrochloride	0.2	0.4	0.6	1.4	4.3	1.0	0.9	0.5	0.1	0.3	0.6	0.7
Captopril	0.1	0.4	1.0	1.3	4.1	3.3	0.9	0.5	0.4	0.6	0.2	0.5

表9 直線性

元素	As	Hg	Pb	Cd	V	Co	Ni	Ir	Pt	Ru	Rh	Pd
相関係数	0.9998	0.9999	0.9975	0.9941	0.9999	0.9999	0.9999	0.9997	0.9998	0.9999	0.9999	0.9999

表10 頑健性

元素		As	Hg	Pb	Cd	V	Co	Ni	Ir	Pt	Ru	Rh	Pd
表6より再掲 Benazepril Hydrochloride	2.0g (基準)	7.2	14.9	2.5	2.6	50.8	25.5	104.2	51.0	49.6	53.0	51.6	50.9
	1.0g	7.1	15.1	2.4	2.3	51.1	25.7	103.7	51.9	49.8	55.1	53.2	51.3
	0.5g	6.7	14.9	2.4	2.4	53.2	26.3	104.4	51.7	49.9	53.9	49.3	50.6
	0.3g	6.6	14.6	2.2	2.4	53.0	26.1	102.1	52.0	49.4	52.2	49.9	50.7
変化率 [%]	1.0g	-1.4	+1.3	-4.0	-11.5	+0.6	+0.8	-0.5	+1.8	+0.4	+4.0	+3.1	+0.8
	0.5g	-6.9	0.0	-4.0	-7.7	+4.7	+3.1	+0.2	+1.4	+0.6	+1.7	-4.5	-0.6
	0.3g	+8.3	-2.0	-12.0	-7.7	+4.3	+2.4	-2.0	+2.0	-0.4	-1.5	-3.3	-0.4
表6より再掲 Captopril	2.0g (基準)	7.2	13.8	2.7	2.5	46.2	23.0	94.5	47.9	45.9	52.6	52.4	51.2
	1.0g	7.1	13.8	2.6	2.6	45.9	23.1	93.8	48.0	46.0	54.1	53.3	51.1
	0.5g	7.3	13.6	2.4	2.4	48.0	23.8	96.3	49.2	46.9	54.7	50.6	51.4
	0.3g	7.0	13.6	2.4	2.6	47.6	23.7	95.9	47.3	46.5	50.6	49.3	49.8
変化率 [%]	1.0g	-1.4	0.0	-3.7	+4.0	-0.6	+0.4	-0.7	+0.2	+0.2	+2.9	+1.7	-0.2
	0.5g	+1.4	-1.4	-11.1	-4.0	+3.9	+3.5	+1.9	+2.7	+2.2	+4.0	-3.4	+0.4
	0.3g	-2.8	-1.4	-11.1	+4.0	+3.0	+3.0	+1.5	-1.3	+1.3	-3.8	-5.9	-2.7

[μg/g]

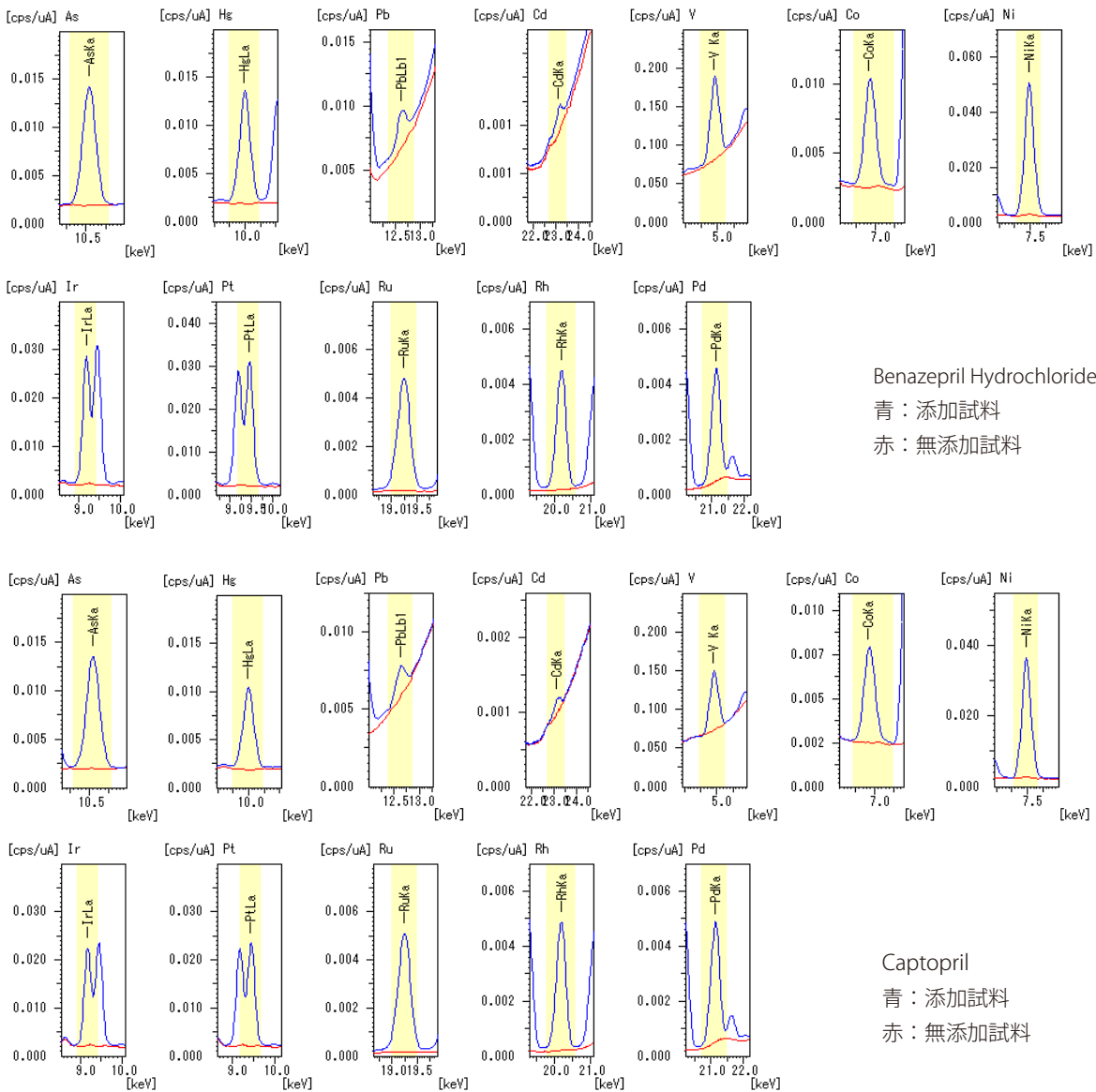


図2 特異性

■ 添加試料・濃度の妥当性

添加試料およびその濃度の妥当性検証として、無添加試料および添加試料を ICPMS-2030 で分析しました。試料(粉末)の一部をマイクロ波試料前処理装置で分解し、溶液化しました。測定溶液は、Class1、Class2A については固体試料から 5000 倍に、Class2B については 25000 倍に希釈して測定しました。

表 11 に ICP-MS の分析結果を示します。

2 種類の原薬試料とも添加濃度に近い値となっていることから、評価試料への添加および均一化が適切になされていると考えられます。また無添加試料においても測定結果が妥当であることを確認しました。

表 11 ICPMS-2030 分析結果表 (n=2 平均値)

Class 元素 添加濃度	Class1				Class2A			Class2B				
	As	Hg	Pb	Cd	V	Co	Ni	Ir	Pt	Ru	Rh	Pd
	7.5	15	2.5	2.5	50	25	100	50	50	50	50	50
Benazepril Hydrochloride 添加試料	7.1	14.9	2.58	2.42	48.6	24.1	99.0	52.1	49.9	50.0	50.3	49.5
無添加試料	<0.2	<0.1	0.03	<0.02	<0.7	<0.02	0.3	<0.05	<0.2	<0.05	<0.07	<0.1
Captopril 添加試料	7.3	15.0	2.62	2.43	50.5	24.8	99.8	51.8	49.5	49.4	50.7	50.1
無添加試料	<0.2	<0.1	0.03	<0.02	<0.7	<0.02	<0.2	<0.05	<0.2	<0.05	<0.07	<0.1

< : 原薬粉末換算定量下限 (10σ) 未満

原薬粉末換算定量下限 (10σ) 未満 : 測定溶液中定量下限 (10σ) × 希釈倍率 (Class1,2A 5,000 倍、Class2B 25,000 倍)

■ 結論

ICH Q3D の元素不純物分析における ICP-AES/MS 代替法として、原薬試料に対する EDX の有効性を示すことができませんでした。また硫黄含有量が約 15% と異材質性が高い Captopril も良好で、水溶液の標準試料を用いて行う本メソッドパッケージの有効性も確認できました。これらから様々な種類の原薬や製剤の管理に応用できると考えられます。

EDX で分析可能な限度濃度は最大一日摂取量が 1g 程度の場合であることから、原薬の種類や摂取量に応じて EDX を選択的に併用運用することで、効率とコスト削減に役立つと考えます。

<参考文献>

- 1) 医薬品の元素不純物ガイドラインについて
(平成 27 年 9 月 30 日 厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知)
- 2) USP<233> ELEMENTAL IMPURITIES—PROCEDURES
- 3) 一般試験法「元素不純物試験法」および参考情報「製剤中の元素不純物の管理」の原案について
(平成 30 年 3 月 独立行政法人医薬品医療機器総合機構)
- 4) USP<735> X-RAY FLUORESCENCE SPECTROMETRY (2015 年 5 月)

表 12 EDX 測定条件
(医薬品不純物分析メソッドパッケージ条件)

装置	: EDX-7000
元素	: As, Hg, Pb, Cd, V, Co, Ni, Ir, Pt, Ru, Rh, Pd
分析グループ	: 定量
検出器	: SDD
X線管球	: Rh ターゲット
管電圧	: 50 [kV]
管電流	: Auto [μ A]
コリメータ	: 10 [mmφ]
1次フィルタ	: #1 (Cd, Ru, Rh, Pd), #2(V), #4 (As, Hg, Pb, Co, Ni, Ir, Pt)
雰囲気	: 大気
積分時間	: 1800 [秒] × 3 (#1, #2, #4)
デッドタイム	: 最大 30 [%]