

EDXを用いた原薬開発における元素分析 —触媒残渣、塩原薬、異物—

中尾 隆美、守屋 宏一

ユーザーベネフィット

- ◆ 原薬を化学的な前処理なく、かつ0.1gと少量の試料でも測定が可能です。
- ◆ ICP-MS で前処理が難しいOsが簡便に分析できます。
- ◆ EDX1台で触媒残渣、塩原薬、異物等、様々な用途に使用できます。

■はじめに

原薬の開発及び製造工程では、様々な目的で元素分析が行われています。開発段階では、ICH Q3D¹⁾や日本薬局方²⁾の対象元素、塩原薬の目的元素などを、簡便・迅速に分析する事が求められます。また、受入れおよび出荷時には、製造工程での異物混入を確認する分析需要もあります。

EDXは装置の起動が速く、試料を粉末のまま専用容器に入れるだけで、誰でも簡単に分析可能です。少量で十分な感度が得られることから、貴重な原薬が用いられる場合もある原薬開発に適した分析法です。

開発段階での分析例として、触媒残渣、塩原薬、異物分析の例を紹介します。触媒残渣の確認では、試料量0.1gでIr, Pt, Ru, Rh, PdおよびOsを定量可能なことを示します。塩原薬分析ではカウンターイオンの確認を想定し、Cl, Br, 及びSを定量しました。異物分析では、製造工程での混入を想定した異物を、EDXとFTIRの統合解析ソフトウェア EDXIR-Analysis™で解析しました。

1. 触媒残渣

■元素

ICH Q3Dガイドラインに準拠し、医薬品に意図的に添加された場合に測定が必要な以下の元素(Class2B)を、検量線法で評価しました。

^{77}Ir , ^{78}Pt , ^{44}Ru , ^{45}Rh , ^{46}Pd , ^{76}Os

■試料

以下2種類の市販原薬粉末とセルロースを使用しました。Osについては原薬と反応する可能性を考慮し、原薬と類似した組成であるセルロースを用いました。

- ① Benazepril Hydrochloride³⁾
- ② Captopril³⁾
- ③ Cellulose Powder

■検量線試料

以下2種類の市販試薬を用いて6水準の試料溶液を調製しました。表1に濃度を示します。

(A) USP-TXM4 (SPEX社) : Ir, Pt, Ru, Rh, Pd

(B) Os 1000 (オスミウム標準原液) (関東化学) : Os

表1 検量線試料濃度 [μg/g]

	超純水	STD1	STD2	STD3	STD4	STD5
Ir, Pt, Ru, Rh, Pd	0	5	10	20	50	100
Os	0	5	10	20	50	100

■検証試料・調製

検証試料は、試料①,②に検量線試薬(A)を、試料③に検量線試薬(B)を添加し、均一になるように混合しました³⁾。濃度は以下3種類で作製しました。

10, 5, 0(添加なし) [μg/g]

■試料前処理

ポリプロピレンフィルムを張った試料容器に以下に示す一定量を入れ、そのまま測定しました。試料を図1に示します。

検量線試料 : 8mL

検証試料 : 2.0g (ノバルク厚とみなせる十分な量)

0.5, 0.3, 0.1g (少量)



検証試料2.0g

検量線試料

図1 試料

■検量線

検量線を図2に示します。
相関係数Rは6元素すべてが0.999以上と良好な直線性が得られています。

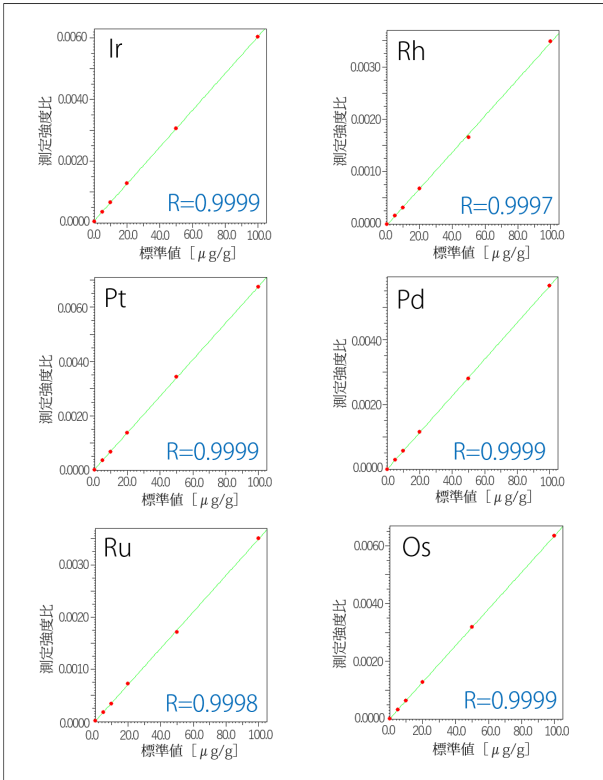


図2 検量線、相関係数R

■分析線プロファイル

Osの分析線OsLaのプロファイルを図3に示します。少量の0.1gでもピークが明確に検出されています。(ほか5元素は省略³⁾)

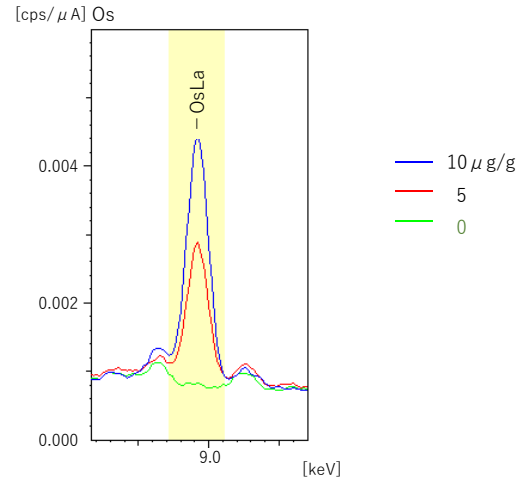


図3 Os分析線プロファイル：検証試料0.1g

■測定結果

検量線法による検証試料の定量分析結果を表2、表3に示します。定量値は単純3回繰り返しの平均値を示します。
(1) 検証試料2.0g (十分な量の場合)
6元素とも、添加濃度に対して最大誤差は8%程度です。
(2) 検証試料0.1, 0.3, 0.5g (少量の場合)
6元素とも、2.0gの場合と同等の値が得られています。

■考察

少量の試料でも誤差10%程度で定量が可能です。

表2 検証試料の定量分析結果(1) ①Benazepril Hydrochloride ② Captopril [μg/g]

濃度	10					5					0					
	Ir	Pt	Ru	Rh	Pd	Ir	Pt	Ru	Rh	Pd	Ir	Pt	Ru	Rh	Pd	
① Benazepril Hydrochloride	2.0 g	10.2	10.2	10.3	10.0	10.7	4.8	4.9	5.1	5.3	5.3	<0.5	<0.4	<0.4	<0.7	<0.7
	0.5 g	10.2	10.2	10.3	10.0	10.6	4.9	4.8	5.3	5.3	5.1	<0.4	<0.4	<0.5	<0.7	<0.9
	0.3 g	10.5	10.7	10.3	10.0	10.8	5.0	4.9	5.4	5.4	4.9	<0.4	<0.4	<0.5	<0.7	<0.9
	0.1 g	11.0	10.9	10.3	10.0	10.6	5.0	5.0	5.3	5.2	4.8	<0.3	<0.3	<0.6	<0.8	<1.1
② Captopril	2.0 g	9.3	9.2	10.0	10.1	10.4	4.4	4.5	5.2	5.4	5.2	<0.6	<0.6	<0.4	<0.7	<0.7
	0.5 g	9.3	9.5	9.9	10.0	10.4	4.4	4.6	5.3	5.4	5.1	<0.5	<0.4	<0.5	<0.7	<0.9
	0.3 g	9.5	9.4	9.9	9.9	10.2	4.4	4.5	5.2	5.5	5.1	<0.5	<0.4	<0.5	<0.7	<0.9
	0.1 g	9.6	9.5	9.9	9.8	10.1	4.5	4.6	5.3	5.2	4.8	<0.4	<0.4	<0.6	<0.7	<1.2

表3 検証試料の定量分析結果(2) ③ Cellulose Powder [μg/g]

元素 濃度	Os			
	10	5	0	
③ Cellulose Powder	2.0 g	10.4	5.0	<0.4
	0.5 g	9.9	4.9	<0.3
	0.3 g	9.8	4.9	<0.3
	0.1 g	9.8	4.9	<0.3

測定条件(触媒残渣)

装置	: EDX-7000、ターゲットユニット
元素	: Ir, Pt, Ru, Rh, Pd, Os
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-管電流	: 50 [kV] -Auto [μA]
コリメータ	: 10 [mmφ]
1次フィルタ	: #1 [Ru, Rh, Pd], #2 [BG], #4 [Ir, Pt, Os]
雰囲気	: 大気
積分時間	: 1800 [秒]×3Ch (#1, #2, #4)
デッドタイム	: 最大30 [%]

2. 塩原薬

塩原薬のカウンターイオンを構成する元素を定量することで、分子数の確認ができます。代表的なカウンターイオンの構成元素であるCl, BrおよびSをFP法で定量しました。

■元素

^{13}Al - ^{92}U

^{16}S , ^{17}Cl , ^{35}Br : 注目元素

■試料

以下の市販原薬粉末6点を分析しました。BrおよびSについては、フリー体原薬またはフリー体部にこれら元素を含む塩原薬を用いました。

- ① Benazepril Hydrochloride
- ② Cetirizine Dihydrochloride
- ③ Propranolol Hydrochloride
- ④ 1-(4-Chlorophenylsulfonyl)-3-propylurea
- ⑤ Bromhexine Hydrochloride
- ⑥ Nalidixic Acid

■試料前処理

ポリプロピレンフィルムを張った微量用試料容器に試料0.2gを入れて測定しました。試料セッティングと試料観察カメラ画像を図4に示します。

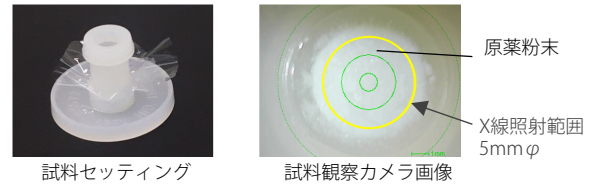


図4 試料

■測定結果

FP法による定量分析結果を、試料の組成式・分子量・含有量理論値とともに表4に示します。Cl, Br, Sとも理論値に対して誤差±1%程度で得られています。

定性分析結果のプロファイルを図5に示します。

■考察

カウンターイオンの確認にはイオンクロマトグラフィーを用いるのが一般的ですが、簡便に確認する手法としてEDXは有効です。

測定条件 (塩原薬)

装置	: EDX-7000
元素	: Na-U
分析グループ	: 定性定量
検出器	: SDD
X線管球	: Rhターゲット
管電圧	: 15 [kV] (Al-Sc), 50 [kV] (Ti-U, Br)
管電流	: Auto [μA]
コリメータ	: 5 [mm ϕ]
1次フィルタ、チャンネル	: Non [Al-U], #2[S-K]
雰囲気	: 大気
積分時間	: 100 [秒]×4Ch
デッドタイム	: 最大30 [%]

表4 定量分析結果と試料の組成式・分子量・含有量理論値

[wt%]

番号	試料	組成式	分子量	理論値 定量値	^{17}Cl 含有量	^{16}S 含有量	^{35}Br 含有量	バランス (組成式)
①	Benazepril Hydrochloride	$\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_5 \cdot \text{HCl}$	460.95	理論値 7.69 定量値 7.51	7.69	—	—	$\text{C}_{24}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_5$ 92.49
②	Cetirizine Dihydrochloride	$\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{ClN}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{HCl}$	461.81	理論値 23.03 定量値 23.00	23.03	—	0.002	$\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{N}_2\text{O}_3$ 77.00
③	Propranolol Hydrochloride	$\text{C}_{16}\text{H}_{21}\text{NO}_2 \cdot \text{HCl}$	295.80	理論値 11.99 定量値 12.90	11.99	—	—	$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{NO}_2$ 87.10
④	1-(4-Chlorophenylsulfonyl)-3-propylurea	$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{O}_3\text{S}$	276.74	理論値 12.81 定量値 12.35	12.81	11.59	—	$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_3$ 76.07
⑤	Bromhexine Hydrochloride	$\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{Br}_2\text{N}_2 \cdot \text{HCl}$	412.59	理論値 8.59 定量値 8.86	8.59	—	38.73	$\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{N}_2$ 52.33
⑥	Nalidixic Acid (Blank)	$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$	232.24	理論値 0 定量値 0.015	0	—	—	$\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$ 99.99

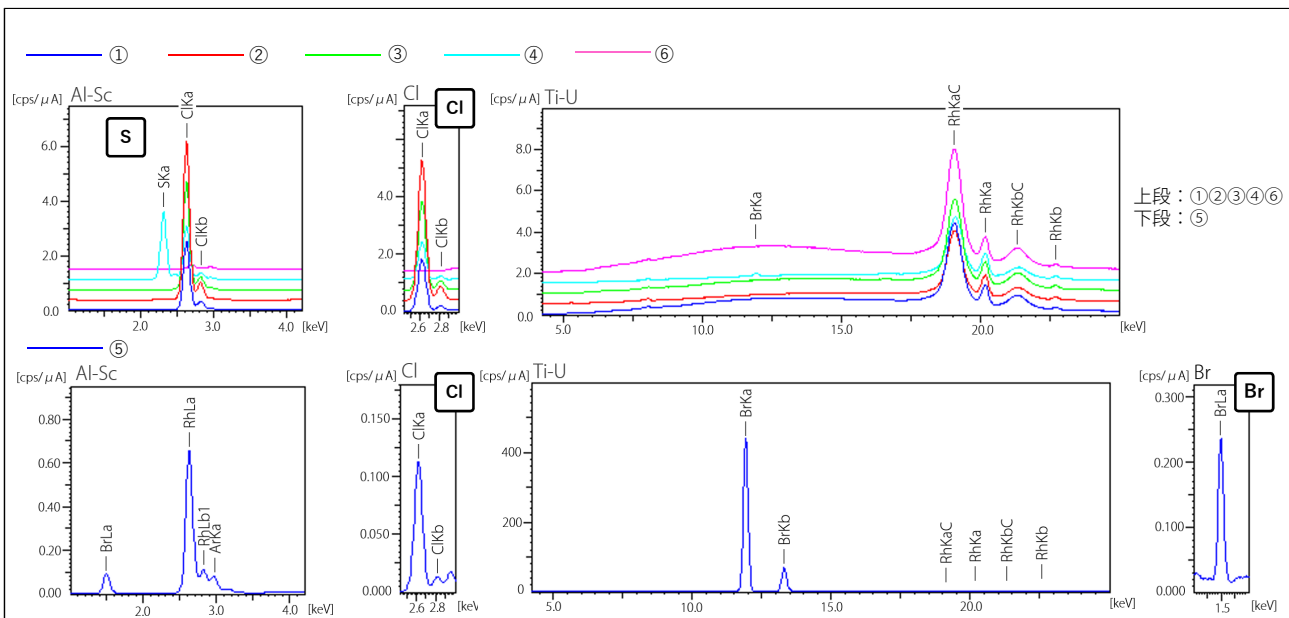


図5 塩原薬の定性分析結果

3. 異物分析

製造工程では、原薬の受入れ検査などで異物分析が行われています。異物の大きさは数十μmから測定が可能で、金属やガラス材などの無機系材料を得意とします。

■試料

異物A, B 2点

■元素

¹¹Na ~ ⁹²U

■試料前処理

ポリプロピレンフィルムに試料を挟み、測定しました。

■測定結果

FP法による定量分析結果、プロファイルを図6に示します。主成分がFe, Cr, Niであることから、ステンレス鋼の類と推定されます。

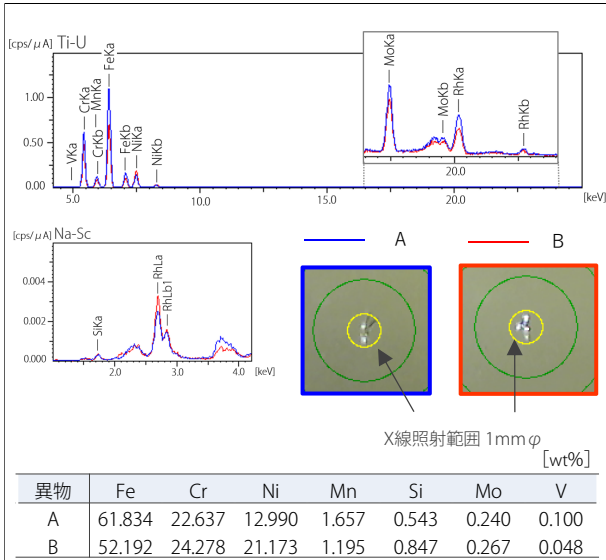


図6 異物A, BのFP定性定量分析結果

■統合解析

統合解析ソフトウェア“EDXIR-Analysis”によるEDX単独解析結果を図7に示します。ヒットリスト1位はそれぞれ以下の通りです。

A : SUH309 (耐熱鋼)

B : SUH310 (耐熱鋼)

プライベートライブラリとしてステンレス鋼のほか、これら耐熱鋼も登録しています。

金属などの無機系異物はEDX単独解析により、また有機系との複合材はFTIRの分析データと併せて解析・特定します。以下EDXIR-Analysis解析例のApplication Newsも参照ください。

- X261 食品製造工程の異物分析 - EDXとFTIRの活用 -
- A522A EDX-FTIR統合解析ソフトウェア EDXIR-Analysisを用いた異物分析
- A535 異物ライブラリの活用
- A567 コンパクトFTIRとEDXによる異物の統合解析

異物A				
順位	一致度	ID	試料名	コメント
1	0.9971	0016	金属異物 016_SUH309(耐熱鋼)	SUH309(耐熱鋼) 主要元素; Fe, Cr, Ni, Mn, Mo 色; 銀 形状; 板状 硬さ; 硬い 金属光沢; 有
2	0.9779	0456	異物 456_ステンレス鋼_2	ステンレス鋼_2 材質; 金属 主要元素; Fe, Cr, Ni, Mo, Mn 色; 銀 形状; 破片 硬さ; 硬い 金
3	0.9779	0457	異物 457_ステンレス鋼_2_D	ステンレス鋼_2 材質; 金属 主要元素; Fe, Cr, Ni, Mo, Mn 色; 銀 形状; 破片 硬さ; 硬い 金
4	0.9717	0003	金属異物 003_SUS316	SUS316 主要元素; Fe, Cr, Ni, Mo, Mn 色; 銀 形状; 板状 硬さ; 硬い 金属光沢; 有
5	0.9716	0454	異物 454_ステンレス鋼_1	ステンレス鋼_1 材質; 金属 主要元素; Fe, Cr, Ni, Mn 色; 銀 形状; 金属 硬さ; 硬い 金属光沢; 有 測定法;

異物B				
順位	一致度	ID	試料名	コメント
1	0.9968	0017	金属異物 017_SUH310(耐熱鋼)	SUH310(耐熱鋼) 主要元素; Fe, Cr, Ni, Mn, Mo 色; 銀 形状; 板状 硬さ; 硬い 金属光沢; 有
2	0.9523	0016	金属異物 016_SUH309(耐熱鋼)	SUH309(耐熱鋼) 主要元素; Fe, Cr, Ni, Mn, Mo 色; 銀 形状; 板状 硬さ; 硬い 金属光沢; 有
3	0.9422	0456	異物 456_ステンレス鋼_2	ステンレス鋼_2 材質; 金属 主要元素; Fe, Cr, Ni, Mo, Mn 色; 銀 形状; 破片 硬さ; 硬い 金
4	0.9422	0457	異物 457_ステンレス鋼_2_D	ステンレス鋼_2 材質; 金属 主要元素; Fe, Cr, Ni, Mo, Mn 色; 銀 形状; 破片 硬さ; 硬い 金
5	0.9307	0001	金属異物 001_SUS303	SUS303 主要元素; Fe, Cr, Ni 色; 銀 形状; 板状 硬さ; 硬い 金属光沢; 有

図7 EDXIR-AnalysisのEDX単独解析結果

測定条件 (異物分析)

装置	: EDX-7000
元素	: Na-U
分析グループ	: 定性定量
検出器	: SDD
X線管球	: Rhターゲット
管電圧	: 15 [kV] (Al-Sc), 50 [kV] (Ti-U)
管電流	: Auto [μA]
コリメータ	: 1 [mmφ]
1次フィルタ、チャンネル	: Non [Al-U], #2[S-K]
雰囲気	: 真空
積分時間	: 100 [秒] × 2Ch
デッドタイム	: 最大30 [%]

■まとめ

原薬開発において、EDXによる元素分析が有効であることが分かりました。以下にこれら特長をまとめます。

1. 簡便性
化学的な前処理を行うことなく、試料容器に原薬を入れるだけで測定が可能です。
2. 安全性
OsをICP-MSなどで分析する場合、前処理により毒性および揮発性の高い四酸化オスミウムとなる場合があります。EDXでは前処理が不要なため、これら懸念がありません。
3. 利便性
装置1台で触媒残渣、塩原薬、異物等、様々な用途にご使用いただけます。

参考文献

- 1) 医薬品の元素不純物ガイドラインについて (薬食審査0930第4号 厚生労働省医薬食品局審査管理課長通知)
- 2) 第17改正日本薬局方第二追補 (厚生労働省告示第49号)
- 3) Application News No. X271 EDXによる原薬のICH Q3D 元素不純物分析

EDXIR-Analysisは株式会社島津製作所の日本およびその他の国における商標です。