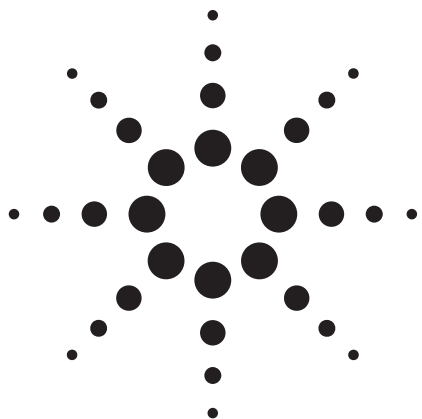




ヘリウムコリジョンモードの Agilent 7500ce ICP-MS を用いた 抗ウイルス薬の半定量分析

アプリケーション

製薬

著者

Rebeca Santamaria-Fernandez、Sheila
Merson、Ruth Hearn
LGC, Queens Road
Teddington, Middlesex, TW11 0LY
UK

要旨

コリジョンガスにヘリウムを用いた Agilent 7500ce ICP-MS による医薬品サンプルの高速半定量元素スクリーニング手法を紹介します。ヘリウムガスを流すことで多原子イオン干渉が除去されるため、スクリーニング目的での薬物錠剤の高速元素分析が可能です。この半定量分析に使用した元素には、通常は多原子イオン干渉の影響を受ける元素が含まれています。しかし、今回 3 つの異なるバッチから得た薬物錠剤の半定量微量金属プロファイルは、定量分析で得たプロファイルと一致しました。このメソッドは実際の医薬品製造チェーンにおける高速分析手法として使用できるものと考えられます。



Agilent Technologies

緒言

医薬品に含まれる不純物の管理は、現在の製薬業界にとって非常に重要な課題です [1]。医薬品の多くは、無機不純物を含まないことが原則とされています。米国食品医薬品局 (FDA) とイギリス薬局方 (BP) は、医薬品の汚染の有無を常に徹底的に調査するよう強く求めており、そのため、汚染物質である無機不純物を検出する高速スクリーニングメソッドが必要とされています。

医薬品の汚染原因としては、有効成分、賦形剤、着色剤などの含有成分の汚染のほか、洗浄剤、潤滑油、残留触媒などによる製造プロセスでの汚染が考えられます。医薬品の製造過程では、混合/反応タンク、水、フィルタ、その他各種機器が使われます。そうした機器類の洗浄が十分でない場合、最終製品の汚染原因となります。そのため、未知サンプルの特定や製造プロセスでの汚染に関する情報の収集を目的として、元素組成が調べられます。一部の医薬品については、微量の無機不純物の存在が安定性の低下や有効期限短縮の原因となることが明らかになっています [1]。こうしたことから、製薬業界では、迅速な品質管理や多数の未知サンプルの微量元素組成を調べるために、無機不純物を高速で分析できる手法が求められています。高速分析を行うことで、迅速に無機不純物を検出し、さらなる措置をとることが可能になります。

本研究では、ヘリウムガスを用いたコリジョン/リアクションセル技術 (CRC) を取り入れた誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) による半定量分析の有効性を示します。半定量分析は、較正用標準物質が使用できない場合や、多数の未知サンプルの高速元素スクリーニングが求められる場合に威力を発揮することが証明されています [2-4]。しかし、半定量分析を実際のサンプルへ適用した例はほとんど文献として発表されていません。近年、リアクションセル技術の進歩により、ヘリウムコリジョンモードで運動エネルギー弁別 (KED) を用いて多原子イオン干渉を除去できるオクタポールリアクションシステム (ORS) が実現しました。これにより、高マトリクスサンプルにおける半定量分析の正確性が非常に向上しています。

本実験で行った半定量分析では、29 種類の元素について同定しました。比較のために、定量分析も行いました。

実験

サンプル前処理

本実験では、異なる製造バッチで作られた6個の抗ウィルス薬錠剤を使用しました。乳棒と乳鉢で粉碎したサンプルから約 0.06 g を正確に秤量し、高純度硝酸 4 mL (Romil、ケンブリッジ、英国) と高純度過酸化水素 2 mL (Romil、ケンブリッジ、英国) を加えてマイクロ波分解しました。マイクロ波分解における昇温プログラムは、10 分間で 180 °C までサンプルを加熱し、さらに 20 分間保持するよう設定しました。冷却後、分解物にイオン交換水を加え 30 g とし、得られた溶液を Agilent 7500ce ICP-MS を用いて分析しました。

各サンプルの分析の際に、Aquacheck 溶液 (熟練度試験スキームで使用) と、既知濃度 (Cd 2 ng/g [ppb]~Ca 11 µg/g [ppm]の濃度範囲) のQCサンプル (精度管理溶液) を分析し、各 ICP-MS 分析の精度と正確性を評価しました。

使用装置

サンプルの分解は マイクロ波分解装置 (Multiwave 3000、Perkin Elmer、ビーコンズフィールド、英国) を用いて行いました。得られたサンプルは Agilent 7500ce CRC-ICPMS (コリジョン/リアクションセル誘導結合プラズマ質量分析計) を使用し、ヘリウムモードで半定量分析を行いました。表 1 にチューニング条件を示します。分析中はネブライザポンプスピードを 0.1 rps に設定して、マトリクス導入による試料導入装置とプラズマへの過負荷を最小限に抑えるために、インテグレート試料導入装置 (ISIS) を使用し洗浄を行いました。

用いたトーチは、直径 2.5 mm インジェクタを搭載しています。複数のガスモードで定量分析を実施する際には、各モードについて 30 秒の安定化時間を設けました。測定は 3 回繰り返して行い、QC サンプルも各サンプルの測定ごとに分析しました。

表1. ヘリウムコリジョンモードでの半定量分析に用いたチューニング条件

RFパワー	1520 W
サンプリング位置	8.0 mm
キャリアガス流量	0.88 L/min
メイクアップガス流量	0.27 L/min
サンプル流量	0.5 mL/min
ネブライザ	ガラス同軸、MicroMist
スプレーチャンバ	石英ガラス製、2 °C に冷却
インタフェースコーン	Ni
セルガス	He
セルガス流量	4.6 mL/min
KED電圧	+2 V

ヘリウムモードでの半定量分析

精度の高い半定量分析を行うためには、すべての元素を同じ条件で採取し、また近接した質量数の元素が一貫した挙動を示すことが不可欠です。Agilent 7500 ORS のヘリウムコリジョンモードでは、精密に制御された運動エネルギー弁別 (KED) を用いて多原子イオン干渉を除去することが可能です。この機能を用いることで、幅広い質量数範囲を正確に半定量することが可能です。ヘリウムは反応性のないガスであり、セル内で新たな干渉が発生することなく、ガスとの反応により分析対象元素が失われるということもありません。プラズマ中で形成される干渉は、イオンレンズ部での物理的な「分子フィルタリング」プロセスにより除去されます [2]。

多原子イオン干渉は、多原子イオンのサイズをもとにヘリウムコリジョンモードで除去されます。サンプルマトリクスにかかわらず、1つの ORS パラメータのみを使用します。このアプローチは単純で高速、かつ正確で、すべての分析対象元素の干渉を除去できます (同重体干渉の影響を受ける元素については、干渉がない同位体を使用する必要があります)。

分析はロバストプラズマ条件で行いました。表1に詳しいチューニング条件を示します。10% HNO_3 (w/w) で調製した Al、Ce、Cd、Co、Li、Tl、U、Y 100 ppb を含む校正用標準溶液を用いて、半定量係数を補正しました。これは、もともとソフトウェア上で設定されている半定量係数を、校正された元素によって補正し、半定量の精度を上げることを意味します。ICP-MS ChemStation ソフトウェアでは、この手順を自動的に処理することが可能です。半定量係数の校正に使用する元素数に制限はありませんが、元素数が増えれば、校正した質量数間の幅が小さくなり、その結果、半定量の精度が向上します。今回、測定するマスレンジに合わせた内部標準元素を用いて、内部標準法で分析を行いました。

ヘリウムモードの半定量分析における感度は、積分時間が同じであれば定量分析における感度とほぼ同じです。本実験では、半定量分析での検出下限を個別に算出しませんでした。補正された半定量係数と低濃度サンプルの半定量結果から推定することは可能です。例えば、図 1 には、あるサンプルにおける Cd の同位体のスペクトルを示しています。111Cd の補正後の半定量係数は 9,960 cps/ppb でした。このサンプルにおける 111Cd の測定結果は 41 cps (同位体と良好に一致) だったことから、溶液中の濃度は 4.1 ppt (pg/g) と推定されます。これをもとにすると、半定量分析における全元素の検出下限は、控えめに見積もっても 100 ppt (オリジナルサンプル中で 50 ppb) と推定できます。表 2 にデータ採取条件を示します。

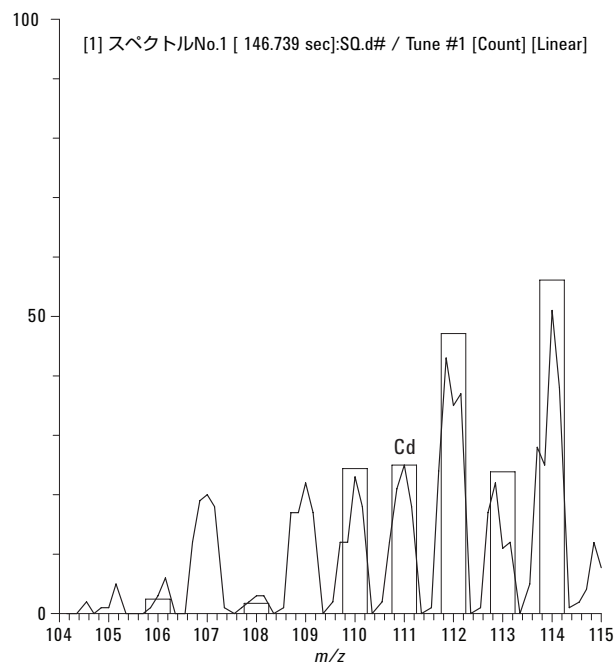


図 1. ヘリウムモードで半定量分析した抗ウイルス薬中の Cd 同位体。m/z 111 で標準化した予測同位体比を重ねて表示しています。半定量結果は約 5 ppt です。

表 2. 半定量分析 データ採取条件

総採取時間	150 秒
採取モード	スペクトルピークホッピング
測定した質量数	250
積分時間	0.6 秒
1 質量数あたりのポイント数	6
繰り返し	1
取り込み時間	50 秒
安定化時間	20 秒
採取後洗浄時間	30 秒

比較のための定量分析

半定量分析との比較のために、ノーガスモード、ヘリウムモード、水素モードで定量分析を実施しました。

Al、As、Au、Ba、Be、Bi、Ca、Cd、Cr、Co、Cu、Fe、Ge、Li、Mg、Mo、Nd、Ni、Pb、Pd、Pt、Rh、Ru、Se、Si、Sb、Sn、Sr、Te、Ti、Tl、V、Zn、Zr の 34 元素について、校正用標準溶液を 1 ppb ~ 2,000 ppb の濃度範囲で 1% HNO_3 (w/w) を用いて調製し、5 ポイント検量線を作成しました。

結果と考察

3 つの異なる製造バッチで作られた抗ウイルス薬錠剤 6 個を分析しました。図 2 に各バッチ (B1、B2、B3) ごとの半定量分析で得られた微量金属元素プロファイルと、定量分析で得られたプロファイルを示しています。いずれのバッチでも、2 つの元素プロファイルはきわめて良好に一致しています。

注目すべきは、分析元素に、Co、Cr、Cu、Fe、Ni、V、Znが含まれている点です。これらの元素はいずれも、複雑なマトリクス中で多原子イオン干渉の影響を受ける同位体を有しています。図3には、1回の半定量分析で得られたフルスキャンマスペクトルと、Ni、Cu、Znを含む領域の拡大図を示しています。この3元素はすべて、予想される同位体比と良好に一致しており、このことは、多原子イオン干渉がヘリウムモードで除去されていることを示しています。また、このプロットには、検出下限以下の濃度で

薬物錠剤中に存在している元素も含まれます。たとえ検出下限以下でも、こういった元素の存在自体の検出も重要であり、この情報は医薬品中不純物のスクリーニングにおいては大きな意味を持ちます。

錠剤中の各元素への適用が認可されている内部QC物質の分析結果は、認証濃度の $\pm 30\%$ に収まりました。認証濃度は、最低がCdの2 ppb、最高がCaの11 ppmです。

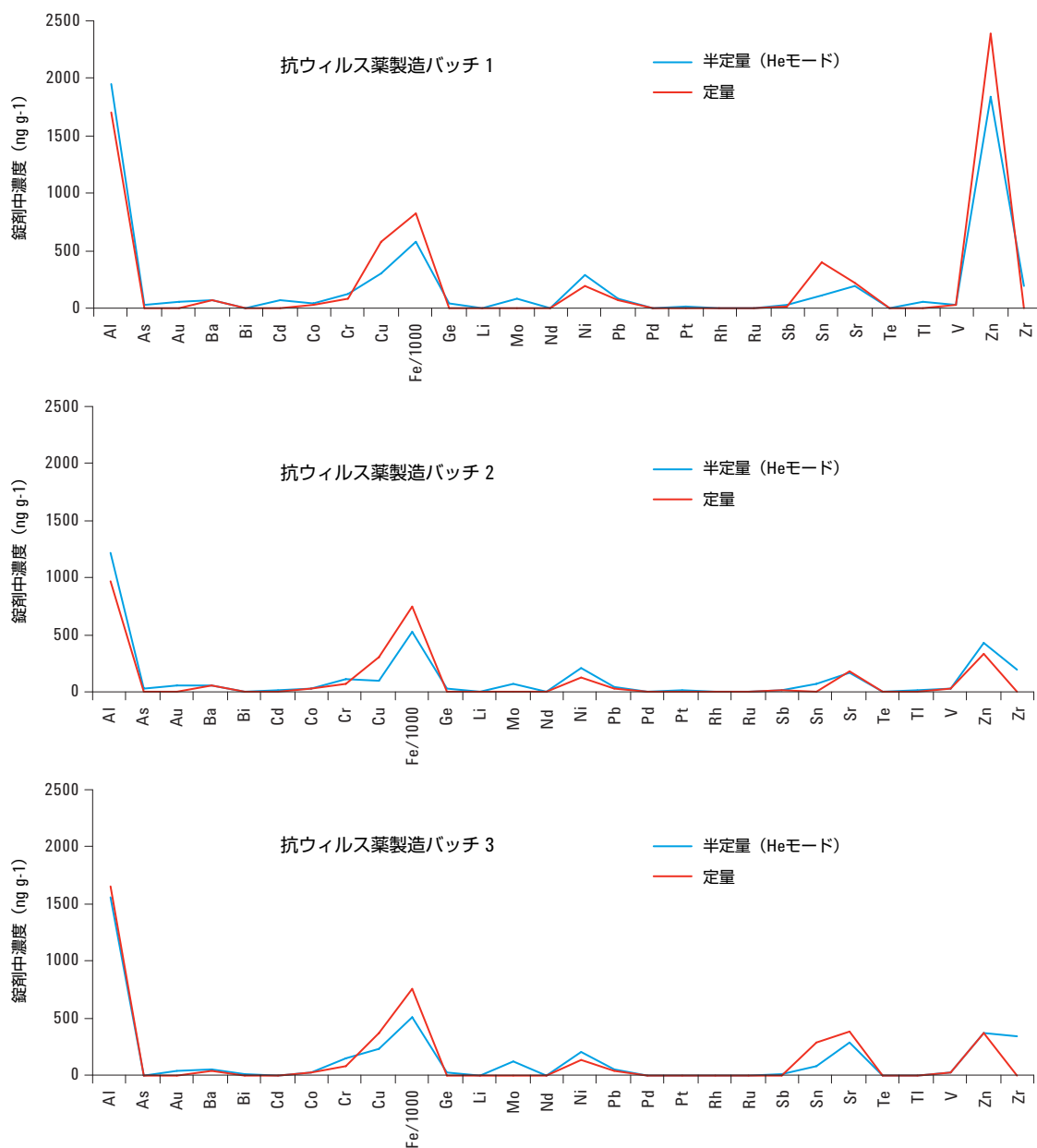


図2. 製造バッチ1～3の抗ウィルス薬錠剤の微量金属元素プロファイリング結果。半定量分析と定量分析の結果を比較しています。Fe濃度は1000分の1で示しており、すべて単位はng/gです。

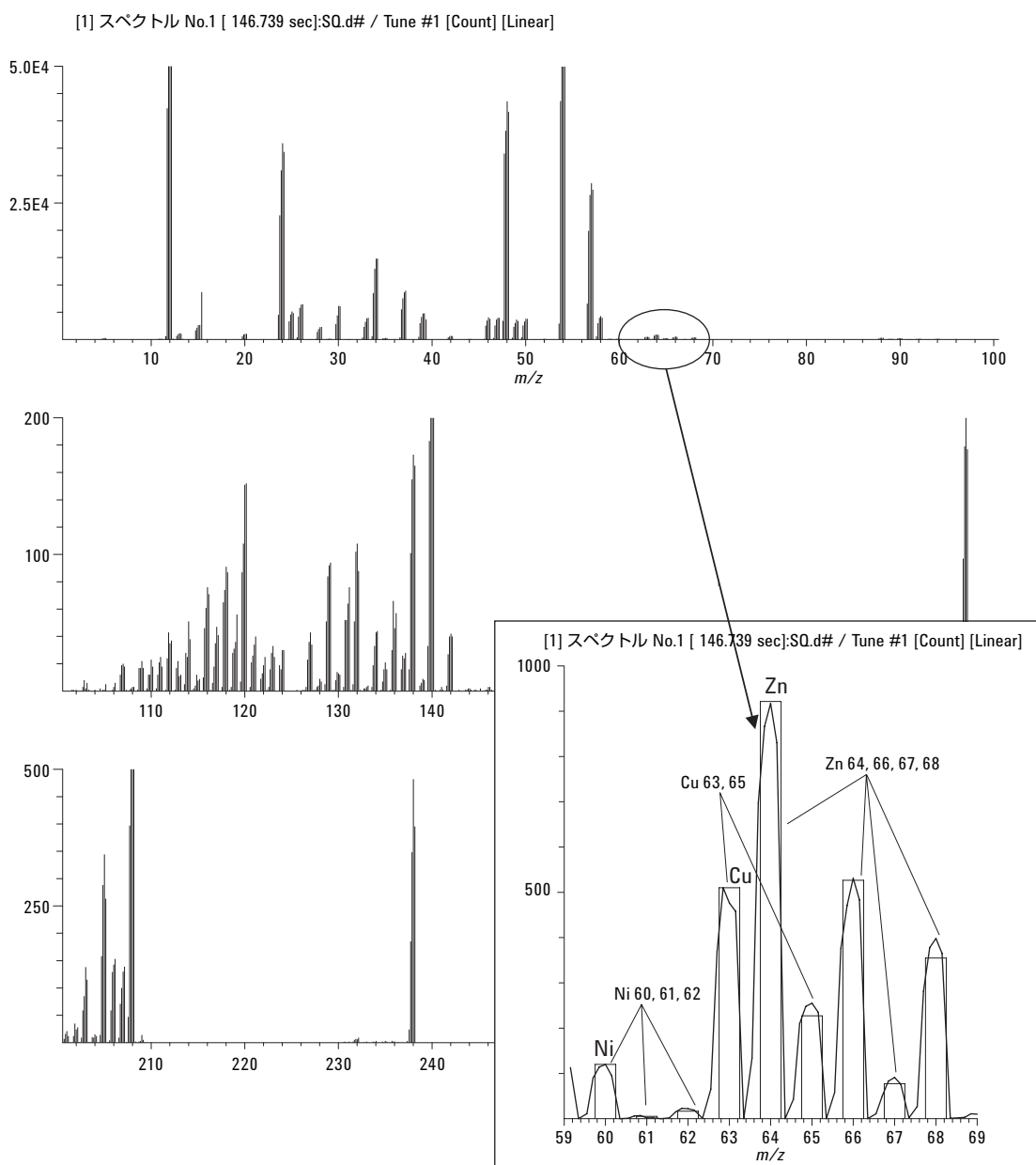


図 3. 全元素組成を示す抗ウイルス薬のフルスキャン半定量マスペクトル。挿入図では、Ni、Cu、Zn の全同位体を含む m/z 60～70 の領域を拡大し、理論上の同位体比を重ね書きしています。

結論

薬物錠剤中の無機不純物の管理は、製薬チェーンにおけるきわめて重要な課題です。そのため、迅速に元素スクリーニングを行う手法が必要とされています。

本研究では、ヘリウムガスを用いたコリジョン/リアクションセル技術 (CRC) を組み合わせた誘導結合プラズマ質量分析 (ICP-MS)

による半定量元素スクリーニングの有効性を紹介しました。3 つの異なるバッチから得た薬物錠剤の微量金属プロファイルは、定量分析で得たプロファイルと一致しました。分析対象元素には、通常多原子イオン干渉を受ける元素が含まれていますが、今回用いたヘリウムモードでの半定量分析では、多原子イオン干渉を効果的に除去し、実際の医薬品サンプルを高速でスクリーニングできることが証明されました。

参考文献

1. J. Roy, "Pharmaceutical Impurities – A Mini Review," AAPS PharmSciTech, 3(2) article 6 (<http://www.aapspharmstech.org>)
2. G. Woods, E. McCurdy, and S. Wilbur, "Interference-Free Semiquantitative Analysis Using the Agilent 7500ce ICP-MS," Agilent Technologies publication 5989-0741EN
3. M. Oishi and K. Fukuda, "Analysis of Electro-ceramics by Laser Ablation ICP-MS," Agilent Technologies publication 5989-0321EN
4. S. Wilbur, "Faster, Simpler, More Accurate Semiquantitative Analysis Using the Agilent 7500cx ICP-MS," Agilent Technologies publication 5989-6662EN

詳細情報

アジレント製品とサービスの詳細については、アジレントのウェブサイト www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本文書を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc., 2008
Published in Japan
September 11, 2008
5989-9443JAJP



Agilent Technologies