

ファーンズ原子吸光分析法による 医薬品中のカドミウム、鉛の分析 ーUSPへの適合性試験ー

サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

キーワード

FDA / 医薬品 / USP232 / USP233

主な利点

- ・アメリカ薬局方 (USP) 232章および233章で定められているカドミウムおよび鉛に対する必要検出限界を達成する性能
- ・限定された元素だけを分析する場合に、ICP-AES/ICP-MSに代わるコストパフォーマンスの良い分析法
- ・実績のある分析法に関するメソッドバリデーションおよびデータのセキュリティ要件

はじめに

米国薬局方 (USP) は、2012年に医薬品に含まれる不純物元素に関する2つの新しい章 (232章および233章) を導入しました。232章ではいくつかの元素に関して医薬品

表1: 医薬品中の不純物元素の許容限度 (USP 232)

元素	経口薬 PDE* (μg/日)	非経口薬 PDE (μg/日)	吸入薬 PDE (μg/日)	LVP**の 許容限量 (μg/g)
カドミウム	25	2.5	1.5	0.25
鉛	5	5	5	0.5
無機ヒ素	1.5	1.5	1.5	0.15
無機水銀	15	1.5	1.5	0.15
イリジウム	100	10	1.5	1.0
オスミウム	100	10	1.5	1.0
パラジウム	100	10	1.5	1.0
プラチナ	100	10	1.5	1.0
ロジウム	100	10	1.5	1.0
ルテニウム	100	10	1.5	1.0
クロム	※	※	25	※
モリブデン	100	10	250	1.0
ニッケル	500	50	1.5	5.0
バナジウム	100	10	30	1.0
銅	1000	100	70	25

* PDE = 体重 50 kg の人間を基準にした1日当たりの摂取許容量

** LVP = 大量非経口医薬品

※ 安全上の注意ではない

結 論

iCE3500ファーンズ原子吸光装置は、USP232と233の要求事項に適合するシンプルで低コストの分析を実現します。CFR21 Part11に準拠するSOLAARセキュリティソフトウェアにより、規制順守が求められるラボでシステムを使用することが可能です。本システムはすべてのターゲット元素の分析に十分な感度を備えています。今回試験したこの特定の医薬品について、カドミウムと鉛の限度測定的手順と定量的手順の両方で、代替手法としてバリデーション要件に適合することを実証しました。

堅牢性試験

表5: 日を変えて実施した生データ

元素	1日目	2日目	3日目	RSD
カドミウム (Cd)	0.375	0.378	0.372	0.8%
鉛 (Pb)	0.112	0.106	0.100	5.6%

両元素ともRSDが25%未満 (カドミウムで0.8%、鉛で5.6%) のため、合格。

バリデーションの結果

USP232、233に記載のメソッドバリデーションに適合したことから、この特定の製品中のカドミウムと鉛の分析について、グラファイトファーンズ原子吸光分析をICP発光分析およびICP-MSの代替手法とできることが実証されました。

サーモサイエンティフィック iCE 3500 原子吸光分析装置

iCE 3500

デュアルオートマイザ原子吸光分析装置
(フレーム・ファーンズ共用機)
フレーム: D2 ランプバックグラウンド補正
ファーンズ: ゼーマン、D2 ランプバックグラウンド補正

- ・全自動フレームファーンズ切替
- ・6本ランプ装着の自動位置調整機構付きランプターレット
- ・グラファイトファーンズテレビジョン (GFTV) 標準装備
- ・ダブルビーム光学系、エッセル型モノクロメータ



サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社

代理店

☎ 0120-753-670 FAX 0120-753-671

〒221-0022 横浜市神奈川区守屋町3-9 C棟2F

〒532-0011 大阪市淀川区西中島6-3-14 DNX新大阪ビル

E-mail: analyze.jp@thermofisher.com

www.thermoscientific.com (グローバル)

www.thermoscientific.jp (日本)

E1212

Thermo
SCIENTIFIC
Part of Thermo Fisher Scientific

Thermo
SCIENTIFIC



中の許容限度を記載しています。表1に2012年4月に改訂された限度値を示します。

233章では、標準的な分析法として、ICP発光分光分析およびICP-MSを規定していますが、この章で定められた適合性試験を満足すれば、他の分析手法も採用することができます。限度測定的手順なのか、定量的手順なのかによって、2つのメソッドバリデーション要件があります。このアプリケーションノートでは、経口電解質製剤中のカドミウムおよび鉛に対して、ファーンズ原子吸光法のバリデーションを実施しました。

バリデーションに関する要求事項

USP233には、2種類のバリデーションについて記載されています。これらは、代替手法が標準の分析法に置き換わるものとして条件を満たすことを実証するために実施されます。これらの検査では、Jと呼ばれる濃度が使用されます。この値は、対象の元素のターゲット限界 (1日摂取許容量) の濃度 (w/w) で、表1に明記されています。

限度測定的手順での試験項目と許容基準

検出性能試験

必要な溶液:

- ・ 標準溶液: 対象元素をターゲット濃度Jで含む
- ・ 添加サンプル溶液1: 対象元素をターゲット濃度Jで添加した試験対象製品の試料
- ・ 添加サンプル溶液2: 対象元素をターゲット濃度Jの80%添加した試験対象製品の試料
- ・ 無添加サンプル溶液: 試験対象の製品の試料

手順:それぞれの試料溶液を3回ずつ測定します。添加サンプル溶液から無添加サンプル溶液の信号を差し引きます。
許容基準: 添加サンプル溶液1の平均値が、標準溶液の値の±15%以内であること。添加サンプル溶液2の平均値は、標準溶液の値を下回ること。

精度試験

必要な溶液:

- ・ 対象元素をターゲット濃度Jで添加した6つの独立したサンプル

方法:それぞれの溶液を測定

許容基準:それぞれのターゲット元素に対して6つの測定値のRSDが20%以下であること。

特異性試験

許容基準:マトリックスおよびその他のターゲット元素の存在下で、それぞれのターゲット元素を明白に評価できる方法である必要があります。

定量的手順での試験項目と許容基準

正確さ試験

必要な溶液:

- ・ ターゲット濃度Jの50%～150%の標準液
- ・ ターゲット濃度Jの50%～150%を添加したサンプル(3個複製で作成)

手順:それぞれの標準液とサンプルを測定

許容基準:それぞれの濃度で複製した溶液の平均値で、回収率が70%～150%

再現性試験

必要な溶液:

- ・ 対象元素をターゲット濃度Jで添加した6つの独立したサンプル

手順:それぞれの溶液を測定

許容基準:6つの測定値は、3回の独立した測定を通して、それぞれのターゲット元素でRSD20%以下であること。

堅牢性試験

手順:以下のいずれかのケースにわたって再現性試験を実施

1. 異なる日
2. 異なる機器
3. 異なる分析者

許容基準:再現性がそれぞれの元素でRSD25%未満であること。

特異性試験

許容基準:マトリックスおよびその他のターゲット元素の存在下で、それぞれのターゲット元素を明白に評価できる方法である必要があります。

機器およびソフトウェア

分析には、Thermo Scientific iCE3500原子吸光分析装置を使用しました。この装置はGFS35Zゼーマングラファイトファーンesとオートサンプラーを備えています。このシステムでは、グラファイトファーンes分析にゼーマン法と重水素バックグラウンド補正の両方を使用することが可能であるため、選択しました。これは、あらゆるマトリックスに対して正確な分析を実施する性能を実現します。
Thermo Scientific SOLAARソフトウェアのSOLAARセキュリティは、電子記録の使用、管理、セキュリティに関連する、米国食品医薬品局 (FDA) のCFR21 Part11の規定の要件に適合するツールを提供します。ソフトウェアの自動最適化機能が、メソッド開発を簡単にします。

サンプルと標準溶液の調製

経口電解質製剤の最大投与量は、1日5袋(約25 g)です。表1から、1日許容量はカドミウム(Cd) 25 µgおよび鉛(Pb) 5 µgです。ストックサンプル溶液は、硝酸1%を加えた脱イオン水1リットルに25 gの製剤を入れて作成しました。Jの値(ターゲット濃度)は、カドミウムで25 µg/1,000 g、鉛で5 µg/1,000 gとなります。カドミウムおよび鉛の標準溶液は、Fisher Scientific製 1.000 g/L (1,000 ppm) を用いました。すべての溶液は、各検査前に新たに調整しました。固体サンプルについては、検体濃度を確実に機器の感度に適合する範囲におさめるために、溶媒の量の選択が可能であることが規定に記載されています。マトリックス修飾剤として硝酸マグネシウム溶液を調製しました。試薬1 gを純水100 mLに溶かし、5 µLで50 µg硝酸マグネシウムを試料に添加できるようにしました。

メソッド開発

サンプルマトリックス中の鉛とカドミウムの両方に対して、最適なファーンes温度プログラムを設定するために、灰化・原子化温度の自動最適化を実施しました。最適化を実施する前に、GFTV (グラファイトファーンes監視テレビ) を用いてサンプルの反応を観察してサイクルの乾燥温度を設定しました。iCE3500システムに標準装備されているGFTVにより、カメラを通してキュベット内部をスクリーン上で確認できます。
最適なファーンesプログラムを、カドミウムと鉛の両方に同じになるように決定しました。ファーンesの装置パラメータを表2に示します。

表2: 鉛およびカドミウム分析のグラファイトファーンes最適化プログラム

温度 (℃)	時間 (秒)	昇温 (℃/秒)	ガスの種類	ガス流量 (L/分)	測定	温度制御
100	30	10	アルゴン	0.2		
350	20	150	アルゴン	0.2		
1100	3	0	アルゴン	オフ	✓	✓
2500	3	0	アルゴン	0.2		✓

測定波長は、鉛217.0 nm、カドミウム228.8 nmとし、重水素バックグラウンド補正を使用しました。カドミウム分析では、サンプル10 µLに対して、硝酸マグネシウム2 µL (20 µg) をマトリックス修飾剤として注入しました。鉛分析では、サンプル20 µLに対して、硝酸マグネシウム5 µL (50 µg) をマトリックス修飾剤として注入しました。キュベットは標準の電気黒鉛キュベットを使用しました。

限度測定的手順の評価結果

検出性能試験

カドミウムは、添加サンプル1の補正值(107%) が標準溶液の15%以内であり、添加サンプル2は標準溶液未満のため、合格。
鉛は、添加サンプル1の補正值(112%) が標準溶液の15%以内で、添加サンプル2は標準溶液未満のため、合格。

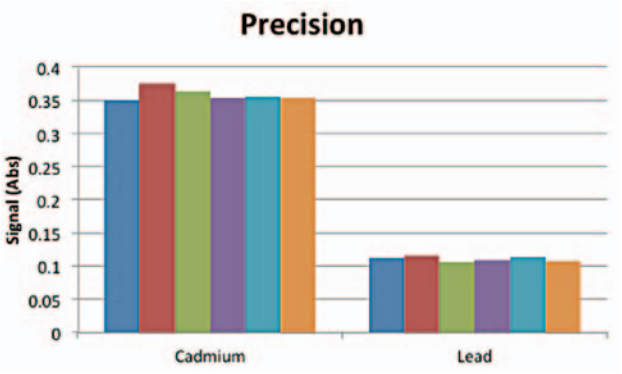
表3: 検出性能試験の補正後データ(標準溶液との比較で表示)

元素	標準	添加1	添加2	添加1 (%標準)
カドミウム (Cd)	0.343	0.367	0.326	107 %
鉛 (Pb)	0.090	0.101	0.089	112 %

精度試験

両元素ともRSDが20%未満(カドミウムで2.7%、鉛で3.2%)のため、合格。これは、定量的手順の再現性試験と同じです。

図1: 精度試験結果



特異性試験

表4: 添加サンプルの生データ

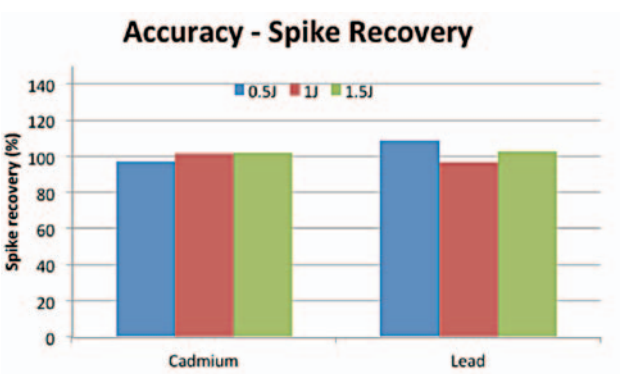
元素	サンプル+カドミウム	サンプル+鉛	サンプル+カドミウム+鉛
カドミウム (Cd)	0.375	0.003	0.372
鉛 (Pb)	0.007	0.109	0.111

この方法は、対象元素のみに依存する結果が得られているため特異的です。この試験は、限度測定的手順と定量的手順の両方で同じです。

定量的手順の評価結果

正確さ試験

図2: 0.5、1.0、1.5 J (ターゲット濃度) での添加回収率



両元素とも、回収率が70～150%の範囲にあるため合格。カドミウムのJは25 µg/1,000 g、鉛のJは5 µg/1,000 gです。