

USP メソッドに従った溶媒使用量の削減と 分析時間の短縮

Agilent 1260 Infinity II Prime LC システムを用いた
USP <621> の要件に基づく UHPLC 条件へのメソッド移管

著者

Edgar Naegele and
Sonja Schipperges
Agilent Technologies, Inc.

概要

このアプリケーションノートでは、米国薬局方（USP）の要件に従って、標準条件下における不純物からの医薬品化合物のグラジエント分離を実証します。グラジエント分離は、UHPLC 条件へのメソッド移管によって向上します。これは、各 USP メソッドに記載の分離要件と USP <621> の計算を維持しつつ、より小さいカラム内径と粒子サイズを使用できるためです。耐圧最大 80 MPa の Agilent 1260 Infinity II Prime LC を用いてこれを検証します。まず、UHPLC 条件へのメソッド移管は分析時間の短縮に有効であり、分離性能を維持しつつ、分析時間の短縮とコストの削減が可能です。結果として、このメソッド移管は、ラボの持続可能性目標の達成と、品質管理（QC）におけるコスト削減にも役立ちます。

このアプリケーションノートでは、インタラクティブなコスト削減カリキュレータについても取り上げます。このツールを使用して、Agilent 1260 Infinity II Prime LC システムによりリソースがどのように節約され、特定の分析でコストと溶媒の削減につながるかを明らかにします。

注： この PDF では計算機能付きの表を提供しています**お客様の要件に合わせて値を変更できます**。変更すると値が更新されます。文書をダウンロードして、お客様の設定値を保存してください。表に値を入力すると表中の計算結果は変更されますが、本文テキスト中の数値は変更されません。

はじめに

USP は、モノグラフに記載の試験と手順に関する基本的なガイドラインを示しています。<621> はクロマトグラフィーに関する専門的なガイドラインです。¹ USP <621> に対する最近の変更により、液体クロマトグラフィーでクロマトグラフィーグラジエント条件の調整が可能になりました。この章の改訂により、液体クロマトグラフィーのグラジエント溶出を対象に、カラム寸法の変更のほか、全多孔質粒子（TPP）カラムから表面多孔質粒子（SPP）カラムへの移行が許容されました。表 1 に、グラジエントシステムのクロマトグラフィー条件に対して許容されている調整の概要を示します。

このアプリケーションノートでは、標準的な HPLC 条件から始まる USP モノグラフから、USP <621> に基づく要件下の UHPLC 条件へのメソッド移管について説明します。これらの条件は、クエチアピリンとその有機不純物のためのグラジエント溶出液体クロマトグラフィーに関するものです。オリジナルの USP メソッドは TPP カラムと組み合わせた従来の Agilent 1100 シリーズ LC を使用し、それを SPP カラムと組み合わせた Agilent 1260 Infinity II Prime LC に移管します。オリジナルのメソッドと UHPLC 条件を使用した分析について、分析時間、溶媒消費量、注入 1 回あたりのコストを比較します。

表 1. USP <621> に基づくグラジエントシステムのクロマトグラフィー条件の調整

パラメータ	許容された調整
カラム長および粒子サイズ	粒子サイズ (dp) に対するカラム長 (L) の比率が一定 (または所定の L/dp 比の -25 % ~ +50 %) である場合、粒子サイズおよび/またはカラム長は変更可能です。 システム適合性の条件は満たす必要があります。
カラム内径	カラムの内径は変更可能です。
流量	流量は、次の式を使用して、カラム内径および粒子サイズの変更に対して調整します。 $F_2 = F_1 \times [(dc_2^2 \times dp_1) / (dc_1^2 \times dp_2)]$
注入量	カラム寸法を変更した場合、以下の式を使用して注入量を調整できます。 $V_{inj2} = V_{inj1} \times [(L_2 \times dc_2^3) / (L_1 \times dc_1^3)]$
グラジエント時間	以下の式に従い、新しいグラジエント時間はオリジナルのグラジエント時間から計算します。 $t_{G2} = t_{G1} \times (F_1/F_2) \times [(L_2 \times dc_2^2) / (L_1 \times dc_1^2)]$
カラム温度	±5 °C。別段の定めがない限り、動作温度は既定されています。

F₁ = モノグラフに示された流量

F₂ = 調整済み流量

dc₁ = モノグラフに示されたカラムの内径

dc₂ = 使用したカラムの内径

dp₁ = モノグラフに示されたカラムの粒子サイズ

dp₂ = 使用したカラムの粒子サイズ

V_{inj1} = モノグラフに示された注入量

V_{inj2} = 調整済み注入量

L₁ = モノグラフに示されたカラム長

L₂ = 使用したカラム長

t_{G1} = モノグラフに示されたグラジエント時間

t_{G2} = 調整済みグラジエント時間

実験方法

機器

Agilent 1100 シリーズ LC システム構成モジュールは次のとおりです。

- Agilent 1100 シリーズデガッサ (G1322A)
- Agilent 1100 シリーズクオートナリポンプ (G1311A)
- Agilent 1100 シリーズオートサンブラ (G1313A)
- Agilent 1100 シリーズカラムコンパートメント (G1316A)
- Agilent 1100 シリーズダイオードアレイ検出器 (G1315B)。
10 mm の標準フローセル (G1315-60022) 搭載

Agilent 1260 Infinity II Prime LC システムの構成は次のとおりです。

- Agilent 1260 Infinity II フレキシブルポンプ (G7104C)
- Agilent 1260 Infinity II バイアルサンブラ (G7129C)
- Agilent 1260 Infinity II マルチカラムサーモスタット (G7116A)
- Agilent 1260 Infinity II ダイオードアレイ検出器 HS (G7117C) と
Agilent InfinityLab Max-Light カートリッジセル 10 mm
(G4212-60008)

ソフトウェア

Agilent OpenLab CDS バージョン 2.6

カラム

- Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C8、4.6 × 150 mm、3.5 μm
(部品番号 993967-906)
- Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C8、4.6 × 100 mm、2.7 μm
(部品番号 695975-906)
- Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C8、2.1 × 100 mm、2.7 μm
(部品番号 695775-906)

表 2. USP モノグラフに記載のクエチアピン有機不純物分析用のメソッド²

パラメータ	値												
カラム	Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C8、4.6 × 150 mm、3.5 μm												
溶媒	溶液 A：アセトニトリル：バッファ (75：25 v/v) 溶液 B：アセトニトリル												
グラジエント	<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間 (分)</th> <th>%B</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.00</td> <td>0.00</td> </tr> <tr> <td>25.00</td> <td>0.00</td> </tr> <tr> <td>60.00</td> <td>77.7</td> </tr> <tr> <td>60.01</td> <td>0.00</td> </tr> <tr> <td>68.00</td> <td>0.00</td> </tr> </tbody> </table> ストップタイム：68 分	時間 (分)	%B	0.00	0.00	25.00	0.00	60.00	77.7	60.01	0.00	68.00	0.00
時間 (分)	%B												
0.00	0.00												
25.00	0.00												
60.00	77.7												
60.01	0.00												
68.00	0.00												
流量	1.50 mL/min												
温度	45 °C												
検出	250 nm/4 nm、リファレンス 360 nm/100 nm、10 Hz												
注入	注入量：20.00 μL												

表 3. クエチアピン有機不純物分析のためのメソッド：4.6 × 100 mm、2.7 μm カラムへ移管

パラメータ	値												
カラム	Agilent InfinityLab Poroshell EC-C8、4.6 × 100 mm、2.7 μm												
溶媒	溶液 A：アセトニトリル：バッファ (75：25 v/v) 溶液 B：アセトニトリル												
グラジエント	<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間 (分)</th> <th>%B</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.00</td> <td>0.00</td> </tr> <tr> <td>12.86</td> <td>0.00</td> </tr> <tr> <td>30.86</td> <td>70.7</td> </tr> <tr> <td>30.91</td> <td>0.00</td> </tr> <tr> <td>34.97</td> <td>0.00</td> </tr> </tbody> </table> ストップタイム：35 分	時間 (分)	%B	0.00	0.00	12.86	0.00	30.86	70.7	30.91	0.00	34.97	0.00
時間 (分)	%B												
0.00	0.00												
12.86	0.00												
30.86	70.7												
30.91	0.00												
34.97	0.00												
流量	1.94 mL/min												
温度	45 °C												
検出	250 nm/4 nm、リファレンス 360 nm/100 nm、20 Hz												
注入	注入量：13.33 μL												

表 4. クエチアピン有機不純物分析のためのメソッド：2.1 × 100 mm、2.7 μm カラムへ移管

パラメータ	値												
カラム	Agilent InfinityLab Poroshell EC-C8、2.1 × 100 mm、2.7 μm												
溶媒	溶液 A：アセトニトリル/バッファ (75：25 v/v) 溶液 B：アセトニトリル												
グラジエント	<table border="1"> <thead> <tr> <th>時間 (分)</th> <th>%B</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.00</td> <td>0.00</td> </tr> <tr> <td>12.86</td> <td>0.00</td> </tr> <tr> <td>30.86</td> <td>70.7</td> </tr> <tr> <td>30.91</td> <td>0.00</td> </tr> <tr> <td>34.97</td> <td>0.00</td> </tr> </tbody> </table> ストップタイム：35 分	時間 (分)	%B	0.00	0.00	12.86	0.00	30.86	70.7	30.91	0.00	34.97	0.00
時間 (分)	%B												
0.00	0.00												
12.86	0.00												
30.86	70.7												
30.91	0.00												
34.97	0.00												
流量	0.41 mL/min												
温度	45 °C												
検出	250 nm/4 nm、リファレンス 360 nm/100 nm、20 Hz												
注入	注入量：2.78 μL												

緩衝液

酢酸アンモニウム水溶液 (3.1 g/L) + 1 L 溶液あたり 2 mL の 25 % 水酸化アンモニウム生成した溶液の pH は 9.2 以上である必要があります。

システム適合性のための溶液の調製

希釈液中の USP クエチアピンシステム適合性 RS (1 mg/mL) (溶液 A および溶液 B (86:14))。

標準溶液の調製

標準溶液：希釈液中の 0.001 mg/mL of USP クエチアピソフマル酸 RS。

試薬および溶媒

すべての溶媒は LC グレードを使用しました。アセトニトリルは Merck (ダルムシュタット、ドイツ) から購入しました。超純水は、0.22 μm メンブレンユースポイントカートリッジ (Millipak, EMD Millipore、ビレリカ、マサチューセッツ州、米国) を備えた Milli-Q Integral システムで精製しました。すべての試薬 (酢酸アンモニウム、アンモニア溶液 25 %) および USP 標準試料 (クエチアピソフマル酸 RS とクエチアピソシステム適合性 RS) は Sigma-Aldrich (シュタインハイム、ドイツ) から購入しました。

結果と考察

クエチアピソおよびその有機不純物の測定に関する USP モノグラフでは、C8 逆相カラム (4.6 × 150 mm、3.5 μm 充填剤、L7) の使用が規定されています。表 2 にクロマトグラフィー条件に示します。² 図 1 に、従来の 1100 シリーズ LC システムでのシステム適合性溶液と標準溶液の分析結果を示します。分離度とテーリングファクターに関する USP モノグラフの要件は満たされています。これらの要件では、システム適合性溶液において、分離度はクエチアピソデトキシソとクエチアピソとの間で 4.0 以上、クエチアピソ関連化合物 B とクエチアピソ関連化合物 G のとの間で 3.0 以上と規定されています。必要なテーリングファクターは 2 以下、RSD はクエチアピソ標準溶液から 5 % 以内です。

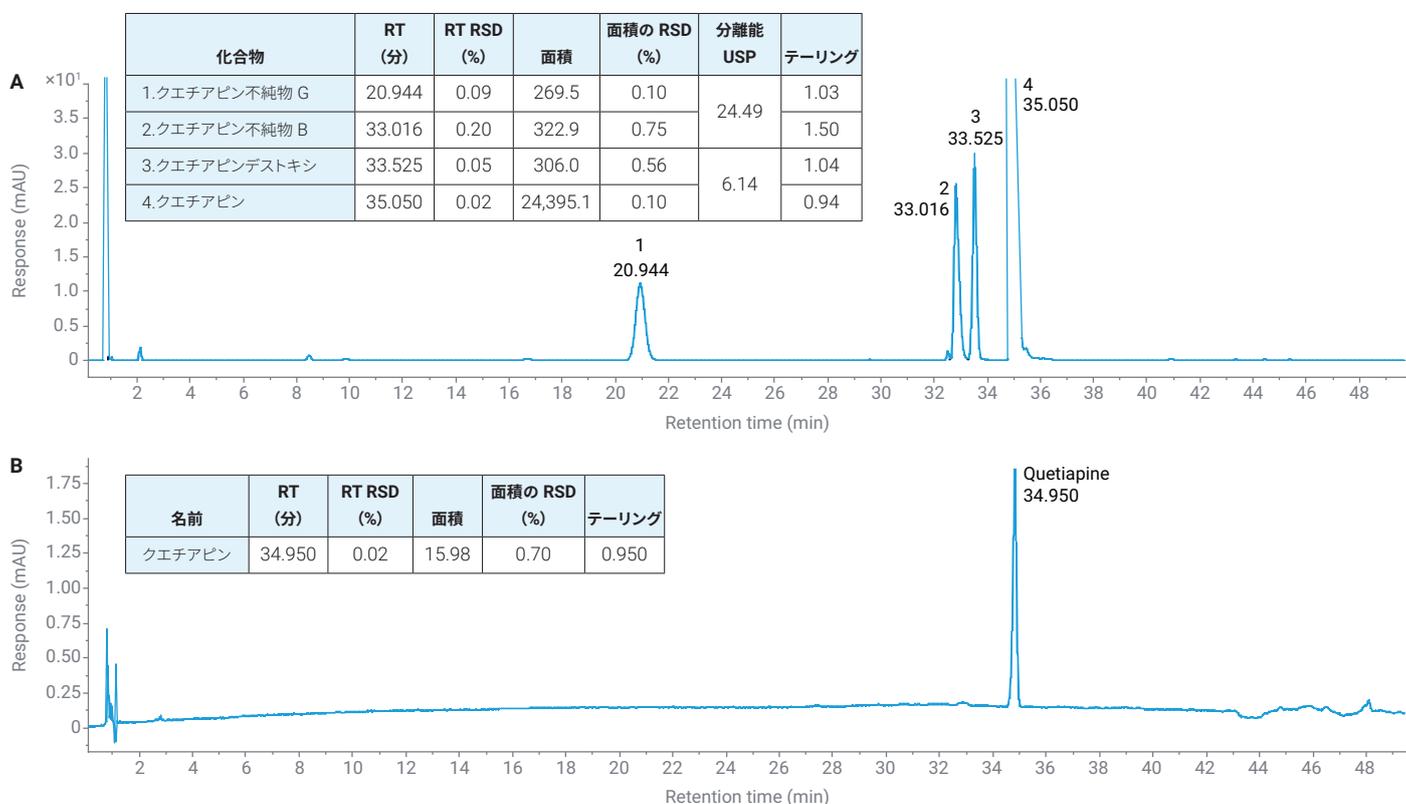


図 1. USP モノグラフに記載されたクエチアピソの有機不純物分析。(A) システム適合性溶液、(B) 標準溶液。1. クエチアピソ関連化合物 G、2.クエチアピソ関連化合物 B、3.クエチアピソデトキシソ、4.クエチアピソ。N = 6 (RSD の計算用)

1260 Infinity II Prime LC を使用するために、クエチアピンの有機不純物の分析メソッドを UHPLC 条件に移管します。InfinityLab Poroshell EC-C8、4.6 × 100 mm、2.7 μm カラムへのメソッド移管により、オリジナルのカラムと比較して L/dp 比が 14 % 低下しました。これは USP <621> によって許容されています。表 3 に、このカラムに適用したクロマトグラフィー条件を示します。

図 2 に、InfinityLab Poroshell EC-C8、4.6 × 100 mm、2.7 μm カラムを使用したシステム適合性溶液と標準溶液の分析結果を示します。

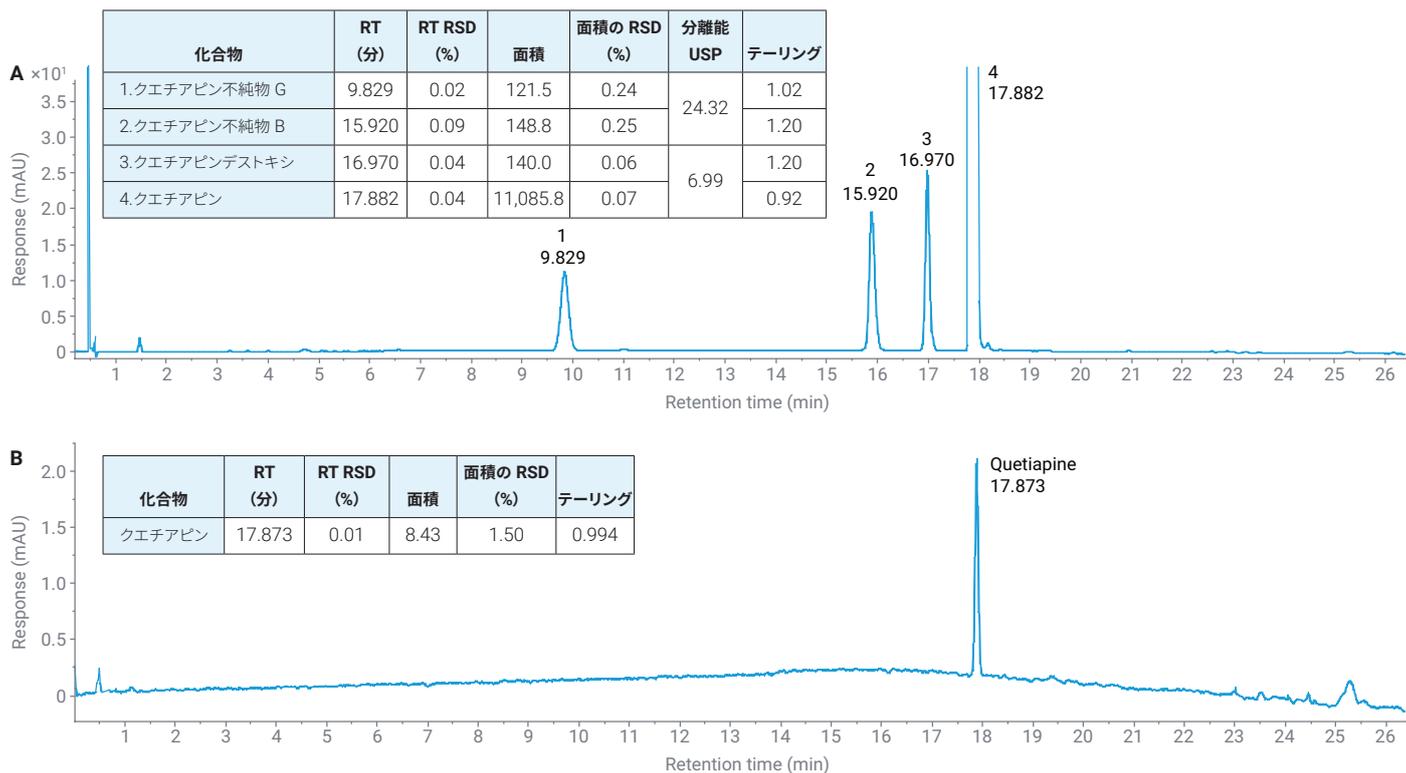


図 2. Agilent 1260 Infinity II Prime LC および Agilent InfinityLab Poroshell EC-C8、4.6 × 100 mm、2.7 μm カラムを使用した、クエチアピンの有機不純物の分析。(A) システム適合性溶液、(B) 標準溶液。1.クエチアピン関連化合物 G、2.クエチアピン関連化合物 B、3.クエチアピンドストキン、4.クエチアピン。N = 6 (RSD の計算用)

溶媒消費量をさらに低減するために、USP <621> に記載の要件内に収めつつ、カラムの内径を小さくしました。図 3 に、InfinityLab Poroshell EC-C8、2.1 × 100 mm、2.7 μm カラムを使用したシステム適合性溶液と標準溶液の分析結果を示します。表 4 に、調整済みのクロマトグラフィ条件を示します。

表 5 は、USP モノグラフに記載のクエチアピンの有機不純物の分析と、2 つの UHPLC 分析を比較したものです。

4.6 × 150 mm、3.5 μm カラムから 4.6 または 2.1 × 100 mm、2.7 μm カラムへのメソッド移管により、L/dp 比が -14 % 低下または +9.3 % 上昇します。このメソッド移管は USP <621> に記載の要件によって許容されます。クエチアピンに関する USP モノグラフのシステム適合性および標準溶液の条件はすべてのメソッドで満たされています。4.6 × 100 mm、2.7 μm カラムへ移管することにより、注入 1 回あたり溶媒消費量が 33.5 % が削減され、分析時間が 48.5 % 短縮されました。2.1 × 100 mm、2.7 μm カラムへの移管では、注入 1 回あたり溶媒消費量が 85.9 % 削減されています。

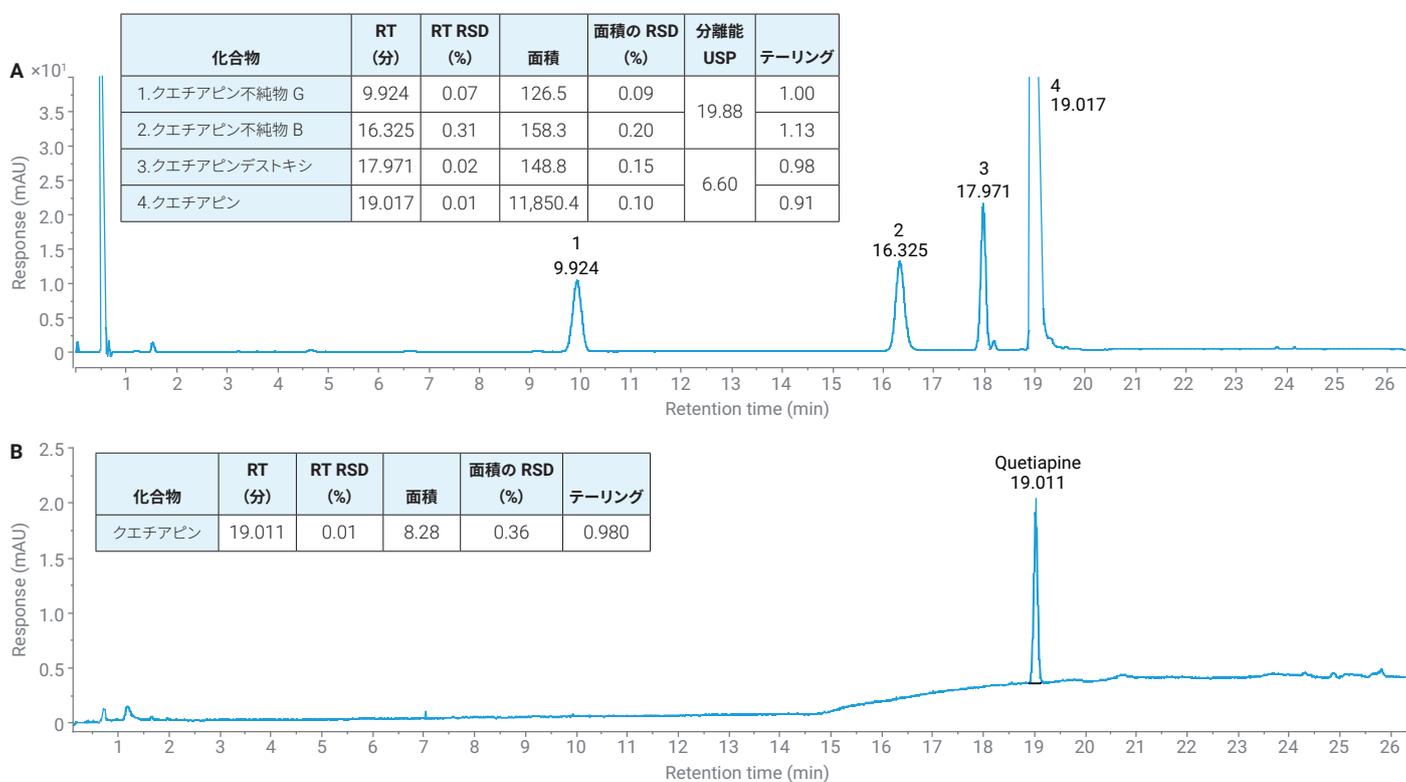


図 3. Agilent 1260 Infinity II Prime LC および Agilent InfinityLab Poroshell EC-C8、2.1 × 100 mm、2.7 μm カラムを使用した、クエチアピンの有機不純物の分析。(A) システム適合性溶液、(B) 標準溶液。1.クエチアピン関連化合物 G、2.クエチアピン関連化合物 B、3.クエチアピンドエストキシ、4.クエチアピン。N = 6 (RSD の計算用)

表 5. USP モノグラフに記載のクエチアピン有機不純物の分析と UHPLC 分析の比較。USP 要件に準拠したものは緑色で示されています。

カラムおよびメソッド			
	Agilent Eclipse XDB-C8、 4.6 × 150 mm、3.5 μm	Agilent Poroshell EC-C8、 4.6 × 100 mm、2.7 μm	Agilent Poroshell EC-C8、 2.1 × 100 mm、2.7 μm
L/dp	43,000	37,000 (-14 %)	47,000 (+9.3 %)
流量	1.5 mL/min	1.97 mL/min	0.41 mL/min
注入 1 回あたりの溶媒消費量	102 mL	68.95 mL (-33.5 %)	14.34 mL (-85.95 %)
分析時間	68.00 min	35.00 min (-48.5 %)	35.00 min (-48.5 %)
クエチアピンモノグラフのシステム適合性要件			
クエチアピindestキシンとクエチアピンの分離度、NLT 4.0	6.14	6.99	6.60
クエチアピン関連化合物 B とクエチアピン関連化合物 G の分離度、NLT 3.0	24.49	24.32	19.88
クエチアピンモノグラフの標準溶液の要件			
テーリングファクタークエチアピン、NMT 2.0	0.95	0.99	0.98
RT RSD クエチアピン、NMT 5 %	0.01	0.01	0.01

表 6 にコスト削減カリキュレータを示します。クエチアピンの有機不純物分析のための既定のシナリオを検討しています。特定の分析のコスト、前提条件、メソッド設定を追加し、1260 Infinity II Prime LC システムへメソッド移管した場合のコスト節減の可能性を計算できます。従来の LC では、USP モノグラフに記載のクエチアピンの有機不純物分析を採用すると、注入 1 回あたりの総コストは 74.40 ドルです。1260 Infinity II Prime LC システムに置き換え、2.1 × 100 mm、2.7 μm カラムへメソッド移管すると、注入 1 回あたりの総コストは 63.84 ドルとなります。

表 6 に示したコストと適用前提条件を用いて、1260 Infinity II Prime LC システム（従来の LC と比較した）のより高い投資コストが回収されるまでの損益分岐点は、990 回の注入（または 10 か月）と算出されます。

持続可能な運用を実現することは、現代のラボの収益性に寄与するもう 1 つの重要な要素です。新たに改訂された USP <621> メソッドにより、UHPLC、および UHPLC による効率的なクロマトグラフィーを、QC ラボの既存メソッドに適用できるようになりました。溶媒消費量の 85.9 %、分析時間のほぼ 50 % という大幅な削減を実現できます。さらに、従来の機器を置き換えることで、分析ラボのスペースを節約でき、エネルギー消費などに良い影響をもたらす可能性があります。³

結論

このアプリケーションノートでは、クエチアピンおよびその有機不純物の分析のための USP メソッドから、USP <621> に基づく UHPLC 条件への移管について説明しました。新たに開発された UHPLC メソッドにより、最大で 85.9 % の溶媒と 48.5 % の分析時間が削減されます。QC ラボでは、これによりクロマトグラフィーの分析確度を維持しつつ、ラボ運用のさらなる目標を実現できる可能性があります。コストを削減し、組織全体の持続可能性目標を促進する機会がもたらされます。

標準的な USP 条件下での従来の Agilent 1100 シリーズ LC を UHPLC 条件下での Agilent 1260 Infinity II Prime LC システムに置き換えることにより、990 回の注入後に新しい機器のコストが回収されます。さらに、溶媒消費量と分析時間の削減による環境負荷の大幅な低減により、QC 条件下においても、グリーンケミストリー 12 原則に準拠できます。⁴

表 6. クエチアピン有機不純物の分析のためのインタラクティブなコスト削減カリキュレータ。コスト、前提条件、メソッド設定をコスト削減カリキュレータに入力すると、特定の分析に対し 1260 Infinity II Prime LC システムによってどのようにコストが削減されるかを確認できます。

構成の概要	
溶媒 (1 L あたりのコスト)	
廃液 (1 L あたりのコスト)	
人件費 (1 年およびオペレータ 1 人あたりのコスト)	
数年間における定額減価償却	
1 年あたりの追加のラボコスト	
日々の業務時間	
週あたりの業務時間	
1 年あたりの稼働週数	
1 年あたりの必要な注入回数 (ブランク、標準などを含む)	

機器の設定	従来 LC	Agilent 1260 Infinity II Prime LC
機器コスト		
1 年あたりの稼働時間		
機器 1 台および 1 年あたりのメンテナンスコスト		
カラム 1 本あたりのコスト		
カラム寿命： 注入回数		
機器 1 台あたりのオペレータ数		
注入 1 回あたりの消耗品 (バイアル、キャップ、フィルタ、シリンジなど)		

メソッドの設定	従来 LC	Agilent 1260 Infinity II Prime LC
分析時間 (カラムの洗浄と平衡化時間を含む)		
流量		

注入および機器	従来 LC	Agilent 1260 Infinity II Prime LC
1 年あたりの最大注入回数		
必要な機器数		

金銭的な観点	従来 LC	Agilent 1260 Infinity II Prime LC
機器コスト		
メンテナンスコスト		
カラムコスト		
消耗品コスト		
溶媒コスト		
廃液コスト		
追加のラボコスト		
オペレータコスト		
総年間運用コスト		
注入 1 回あたりの総コスト		

損益分岐点の計算	Agilent 1260 Infinity II Prime LC
注入	
月	

持続可能性の観点	従来 LC	Agilent 1260 Infinity II Prime LC
溶媒消費量		

参考文献

1. United States Pharmacopeia General Chapter <621> Chromatography. The National Formulary. Rockville, MD: United States Pharmacopeial Convention, Inc., 1 Dec **2020**.
2. United States Pharmacopeia USP Monograph on Quetiapine. The National Formulary. Rockville, MD: United States Pharmacopeial Convention, Inc., 1 Jan **2023**.
3. Rieck, F. HPLC が環境に及ぼす影響の評価 アジレント・テクノロジー 技術概要、資料番号 5994-2335JAJP, **2022**.
4. Anastas, P. T.; Warner, J. C. Green Chemistry: Theory and Practice; Oxford University Press, **1998**.

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。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。

DE41656484

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2023
Printed in Japan, July 28, 2023
5994-6126JAJP