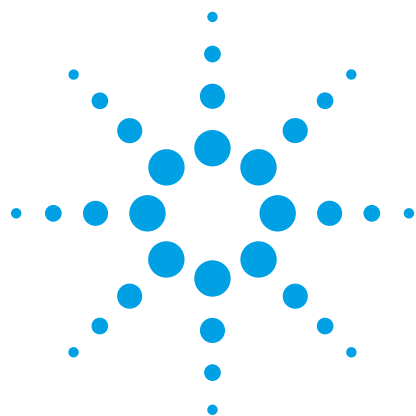




7697A ヘッドスペースサンブラと Agilent 7890B GC/5977A MSD による USP<467> 残留溶媒の分析

アプリケーションノート

医薬品

著者

Roger L. Firor and Mike Szelewski
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Rd
Wilmington, DE 19808-1610
USA

要約

Agilent 5977 シリーズ GC/MSD システムと Agilent 7697A ヘッドスペースサンブラを使用し、USP <467> メソッドの手順 A に従って、水溶液中での限界濃度で USP <467> 残留溶媒の分析を行いました。スキャンデータからは、クラス 1、クラス 2A、およびクラス 2B 溶媒について概して 2.5 % を下回る RSD が得られました。フューズドシリカのヘッドスペーストランスファーラインからのサンプル導入には、内径 1 mm ウルトライナートライナ付きのマルチモード注入口 (MMI) を使用しました。それぞれ 250 °C および 200 °C のイオン源温度と四重極温度を使用したデータ取り込みで、Atune と Etune を含むいくつかのチューニングを用いました。データの解析には MassHunter Quant ソフトウェアを使用しました。



Agilent Technologies

はじめに

医薬品中の残留溶媒の分析は、患者の安全を守るためにきわめて重要です。品質管理 (QA) ラボでは、このために米国薬局方 (USP) メソッド <467> を日常的に使用しています [1]。この基本的なメソッドは世界中で品質管理に使用されています。このメソッドは、不純物に関する業界向けガイダンス ICH Q3C に適合しています。

医薬品中の残留溶媒は、有効医薬品原料 (API) または完成製品の製造過程で残ったものです。残留溶媒には治療上のメリットはなく、可能な限り除去する必要があります。残留溶媒のレベルの監視と管理は、安全性、結晶形に対する影響、溶解性、バイオアベイラビリティ、安定性などの理由でも行われています。すべての原薬、賦形剤、製品を監視する必要があります。

USP <467> のガイドラインは、一般に [1] に従っています。7697A ヘッドスペースサンブラの高度な機能を活用できるように、ヘッドスペースのパラメータを変更し、最適化しました。USP から逸脱した分析法を使用することもできますが、その場合は、バリデーションや元の USP 手順との比較が必要になります。明確にするために、溶媒クラスごとに個別に分析を行いました。

USP <467> では、クラス 1 およびクラス 2 の残留溶媒について次の 3 つの手順を指定しています。

1. 手順 A : 同定および検出限界試験
2. 手順 B : 確認試験
3. 手順 C : 定量試験

手順 A では G43 液相 (Agilent 624 カラム、VF-624ms または DB-624) を、手順 B では G16 液相 (HP-INNOWax) を使用します。一般に、これらの液相の一方で分離する化合物は、別の液相では分離できません。感度と再現性の評価がこのアプリケーションノートの主な目的であるため、VF-624ms カラムのみを使用しました。これまでの説明にあるように、デュアル FID (624 および INNOWax カラム) または FID/MSD を使用した他の構成も可能です [2、3、4、5]。

ヘッドスペース法では、溶媒をその USP 467 限界濃度以下で分析すると再現性が悪くなるという問題が以前からありました。先進的なニューマティクス、優れたサーマルゾーンの制御、高精度のタイミングを使用することで、残留溶媒分析の再現性と精度が向上します。新しい不活性エキストラクタイオン源など、5977A シリーズ GC/MSD システムの機能も再現性の向上に寄与しています。

USP 467 は広く知られており、世界中の医薬品 QA ラボにおいて、FID を用いた GC ヘッドスペースシステムで実施されています。GC ヘッドスペース - MSD システムは、特に不明化合物が検出されたときの残留溶媒の分析能力を向上させます。SIM を使用すると分離の問題が解決され、優れた感度を達成することができます。

実験方法

このアプリケーションノートでは、USP 467 手順 A を用いて、7890B-7697A を使用した 5977 シリーズ GC/MSD システムの性能を評価しました。7890B GC はマルチモード注入口 (MMI) を使用して構成しました。内径 1 mm の不活性処理済みストレートライナ (p/n 5190-4047) を使用しました。

クラス 1、クラス 2A、およびクラス 2B 残留溶媒を、純水を使用してそれぞれの限界濃度で前処理しました。標準の前処理を適切に行うには、有機物を含まないクリーンな水がきわめて重要です。250 mL の各クラスの溶液をその最終濃度で前処理し、オートピペットを使用して 6 mL を 20-mL バイアルに移しました。PTFE ライナー付きセプタムだけを使用しました。溶液に塩は加えませんでした。残留溶媒標準試料のアジレント部品番号は次のとおりです。

クラス 1: p/n 5190-0490

クラス 2A: p/n 5190-0492

クラス 2B: p/n 5190-0513

内径 0.53 mm の不活性処理済みフューズドシリカを使用して、7697A ヘッドスペースサンブラを注入口に接続しました。MMI への接続はセプタムより行いました。分離能、速度、容量、および使いやすさのバランスが良好な 30 m、内径 0.25 mm の VF-624ms カラムをこの実験に使用しました。

バイアル加圧は 7697A ヘッドスペースサンブラのニューマティクスコントロールモジュール (PCM) で制御します。キャリアガスは注入口の EPC からヘッドスペースサンブラに入り、7890B 注入口に戻ります。EPC で制御するサンプリング手順により、キャリアオーバーが最小限に抑えられた、確実な再現性の高いメソッドで、ヘッドスペースバイアルサンプリングのすべての要素をユーザーが制御できます。EPC モジュールには気圧補正機能も実装されています。パラメータは、7697A ヘッドスペースサンブラのキーボードから、または統合されたヘッドスペース制御ソフトウェアから設定できます。図 1 に、MSD ChemStation のヘッドスペースバイアルサンプリングを示します。

7697A ヘッドスペースサンブラでは制御ベントが使用されているため、サンプルループへの注入時に最終バイアル圧を柔軟に制御できます。この制御により優れた再現性が得られ、対象化合物の k (分配係数) 値に応じて感度を向上させることもできます。7697A ヘッドスペースサンブラでは 3 つのバイアル加圧モードを使用できます。このモードとは、1) 指定圧力まで一定流量、2) 充填圧力制御、3) 一定容積の 3 つです。すべての実験に「指定圧力まで一定流量」モードを使用しました。図 1 に、バイアルサンプリングパラメータを設定するための設定画面を示します。ヘッドスペースサンプリングでは HS バイアル圧が 15 psi から 10 psi に変化します。

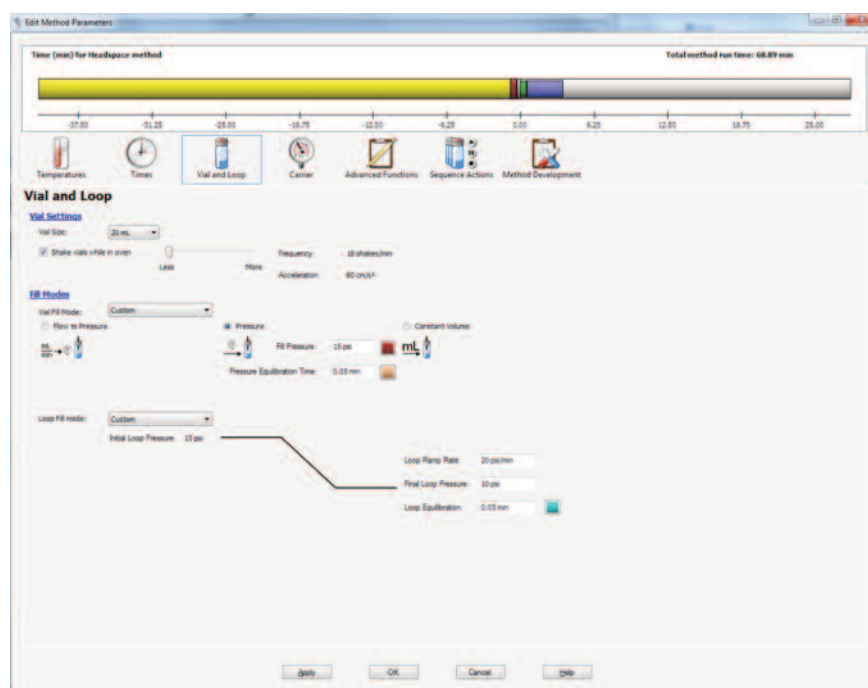


図 1. 20 mL バイアルのパラメータを示します。HS バイアルは 15 psi まで加圧され、20 psi/min の速度で 10 psi までベントされます。

凝縮を軽減する水分トラップをベントラインに接続し、分析間にパージします。ヘッドスペースサンプルループは 1.0 mL です。キャリアとバイアル加圧にはヘリウムを使用します。各機器の設定パラメータを表 1 に示します。

Mass Hunter ソフトウェア

5977 シリーズ GC/MSD システムを導入すれば、Agilent 7000B GC/MS/MS のソフトウェアに類似した MassHunter (MH) ソフトウェアを使用することもできます。データの取り込み機能が向上し、特に SIM テーブルの設定が容易になりました。SIM、スキャン、および温度パラメータが 1 つの画面に表示されるため、すばやく確認することができます。現在の MSD Chemstation acquisition メソッドをインポートし、MH で直接使用できます。

データの解析は MH 定性分析 (Qual) または MH 定量分析 (Quant) を使用して行います。このアプリケーションノートでは、Qual をクロマトグラムの表示に使用しました。Quant は化合物の統合に使用し、それ以降の RSD の計算は Excel で行いました。現在の MSD Chemstation quant データベース (キャリブレーションテーブル) を組み込みのコンバータで容易に変換し、MH Quant で使用することができます。

MH Qual および Quant の使用は必須ではありません。5977 シリーズ GC/MSD システム取り込みソフトウェアは、MH 形式と従来の MSD Chemstation 形式の両方でデータを自動的に保存します。データ解析の形式はラボごとに選択ができます。

この実験で使用したソフトウェアバージョンは、MSD ChemStation B.07.00 acquisition、MassHunter B.05.01 Quant、および Headspace 制御ソフトウェア B.01.04 です。

表 1. 残留溶媒分析のシステムパラメータ

ガスクロマトグラフ	Agilent 7890B GC
注入ポート	マルチモード注入口
ライナ	内径 1 mm ウルトライナート (p/n 5190-4047)
注入口温度	140 °C
注入口流量	定流量、1.3 mL/min
スプリット比	20:1、100:1
オープンプログラム	40 °C で 5 分間、 18 °C/min で 40~240 °C、 240 °C で 2 分間
カラム	VF-624ms、30 m × 0.25 mm、1.4 µm
MSD	Agilent 5977A シリーズ GC/MSD システム
トランスファーライン	190 °C
MS イオン源	250 °C
MS 四重極	200 °C
チューニング	etune、atune、 および bfb チューニングを使用
スキャン	29~150 amu、10.3 スキャン/sec
ゲイン係数	1.00
ヘッドスペース	Agilent 7697A ヘッドスペースサンプラ
バイアル加圧ガス	ヘリウム
ループサイズ	1.0 mL
バイアルスタンバイ流量	20 mL/min
トランスファーライン	0.53 mm 不活性処理済み フューズドシリカ
HS オープン温度	85 °C
HS ループ温度	85 °C
HS トランスファーライン温度	100 °C
バイアル	20 mL、PTFE/シリコンセプタム
バイアルの攪拌	レベル 1
バイアル注入モード	指定圧力まで一定流量
バイアル注入圧力	15 psi
ループ注入モード	カスタム
ループ昇温速度	20 psi/min
ループ最終圧力	10 psi
ループ平衡化時間	0.05 分
キャリア制御モード	GC キャリア制御
抽出後のベント	オン
注入後パージ	100 mL/min で 3 分間

結果と考察

図 2 に、純水で前処理した限界濃度のクラス 1 残留溶媒の TIC を示します。クラス 1 溶媒であるベンゼンおよび 1,2-ジクロロエタンは VF-624ms カラムでベースライン分離されます。

表 2 に、すべてのクラスについてスキンの RSD、クラス 2A について SIM の RSD を示します。ほとんどの RSD は 2.5 % を大きく下回っています。わずかに高い値を持つものは、一般に k の値が低くなっています。k の値が低い溶媒の方が、サンプル前処理の変動による影響は大きくなります。ジメチルスルフォキシド (DMSO)、ジメチルアセトアミド (DMAC)、1,3-ジメチル-2-イミダゾリノン (DMI) などの他の溶媒系、または DMSO/水などの混合物では明らかにレスポンスが変化します。

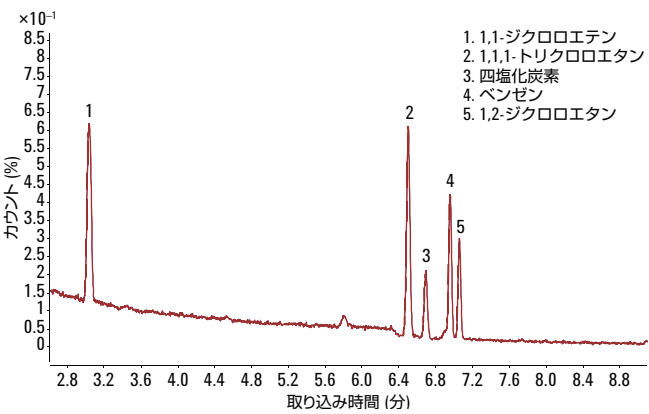


図 2. 純水を使用してその限界濃度で前処理したクラス 1 残留溶媒の TIC

表 2. 残留溶媒クラス 1、クラス 2A、およびクラス 2B の再現性。
すべてのクラスのスキンデータとクラス 2A の SIM データを示します。水系希釈溶液中の限界濃度で前処理しました。

化合物	USP 下限値 (ppm)	スキン RSD (%)	SIM RSD (%)
クラス 1 n = 8			
1,1-ジクロロエテン	8	0.9	
1,1,1-トリクロロエタン	1,500	1.9	
四塩化炭素	4	1.5	
ベンゼン	2	0.7	
1,2-ジクロロエタン	5	0.9	
クラス 2A n = 10			
メタノール	3,000	2.8	2.4
アセトニトリル	410	3.3	2.3
ジクロロメタン	600	2.5	2.2
trans-1,2-ジクロロエテン	1,870	2.4	2.2
cis-1,2-ジクロロエテン	1,870	2.1	2.1
テトラヒドロフラン	720	3.0	2.2
シクロヘキセン	3,880	2.7	1.3
メチルシクロヘキサン	1,180	4.3	1.6
1,4-ジオキサン	380	2.6	2.3
トルエン	890	0.7	2.0
クロロベンゼン	360	1.9	2.1
エチルベンゼン	2,170	1.9	2.1
m-キシレン、p-キシレン	2,170	2.1	1.8
o-キシレン	2,170	2.1	1.8
クラス 2B n = 9			
ヘキサン	290	3.2	
ニトロメタン	50	3.8	
クロロホルム	60	2.5	
1,2-ジメトキシエタン	100	2.7	
トリクロロエテン	80	2.5	
ピリジン	200	3.9	
2-ヘキサノン	50	2.4	
テトラリン	100	2.5	

クラス 2A 溶媒の代表的な TIC を図 3 に示します。一部のクロマトグラムの拡大図を図 4 に示します。

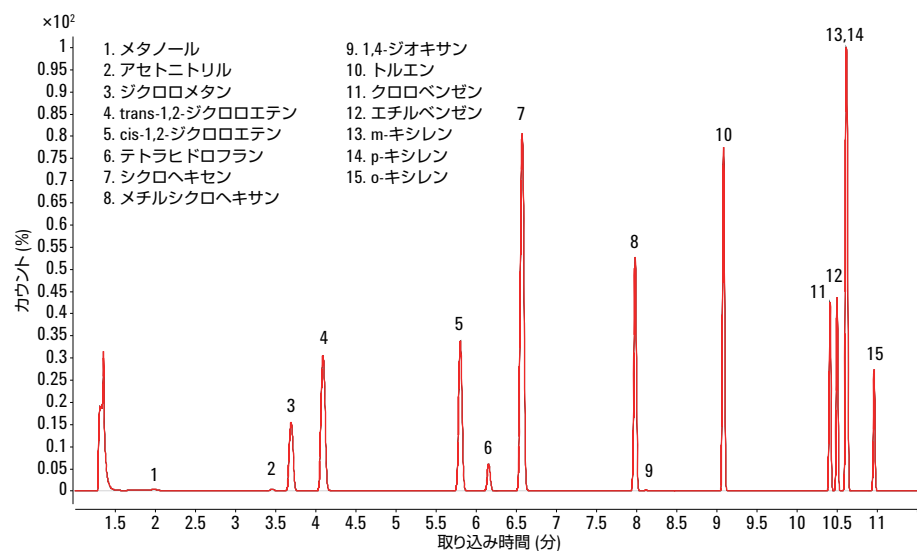


図 3. クラス 2A 溶媒の代表的な TIC

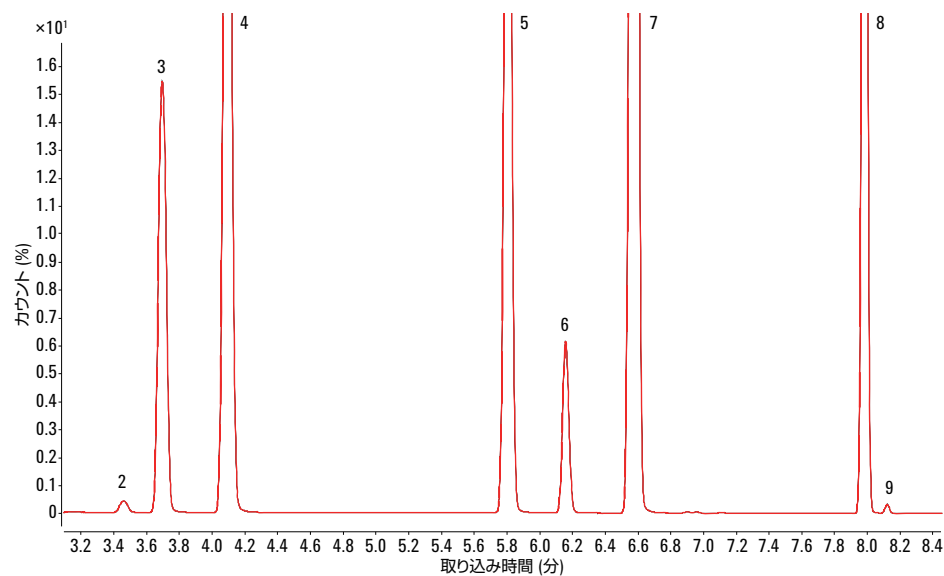


図 4. レスポンスの低い化合物 (アセトニトリルおよび 1,4-ジオキサン) を示したクロマトグラムの拡大表示。ピーク番号については図 3 を参照してください。

図 5 および表 3 に、それぞれ SIM クロマトグラムと使用した SIM イオンを示します。この分析では 100 : 1 のスプリット比を使用しました。高スプリット比により、メタノールピークの対称性が大幅に向上しました。また、高いスプリット比でも、優れた S/N 比が得られました。図 6 に、MSD ChemStation acquisition ソフトウェアの SCAN/SIM 設定 (クラス 2A) を示します。

図 7 に、クラス 2B 溶媒の一般的な SIM クロマトグラムを示します。スプリット比は 20:1 です。ニトロメタンについて良好な S/N 比が得られました。ピリジンは極性が高いため分析が難しい物質ですが、VF-624 ms カラムではピークテーリングが最小限に抑えられています。使用する SIM イオンを表 4 に、MSD ChemStation の設定を図 8 に示します。

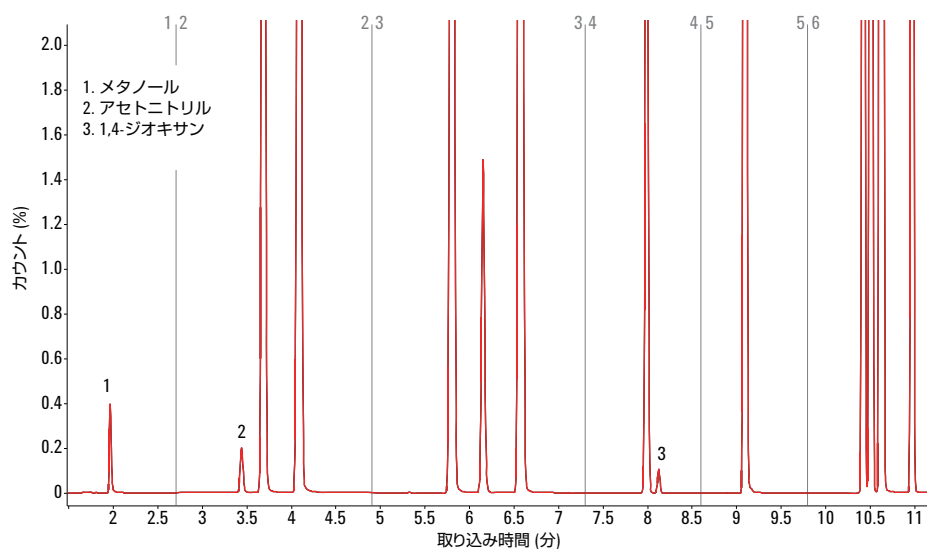


図 5. クラス 2A の SIM クロマトグラム、SIM グループのセグメントを使用

表 3. クラス 2A 溶媒の SIM グループ

グループ	化合物	SIM イオン
1	メタノール	31、29
2	アセトニトリル ジクロロメタン <i>trans</i> -1,2-ジクロロエテン <i>cis</i> -1,2-ジクロロエテン	39、41、84、86、96、98
3	テトラヒドロフラン シクロヘキセン メチルシクロヘキサン	56、71、72、84、96、98
4	1,4-ジオキサン	58、83、88、98
5	トルエン	91、92
6	クロロベンゼン エチルベンゼン <i>m</i> -キシレン、 <i>p</i> -キシレン、 <i>o</i> -キシレン	91、106、112、114

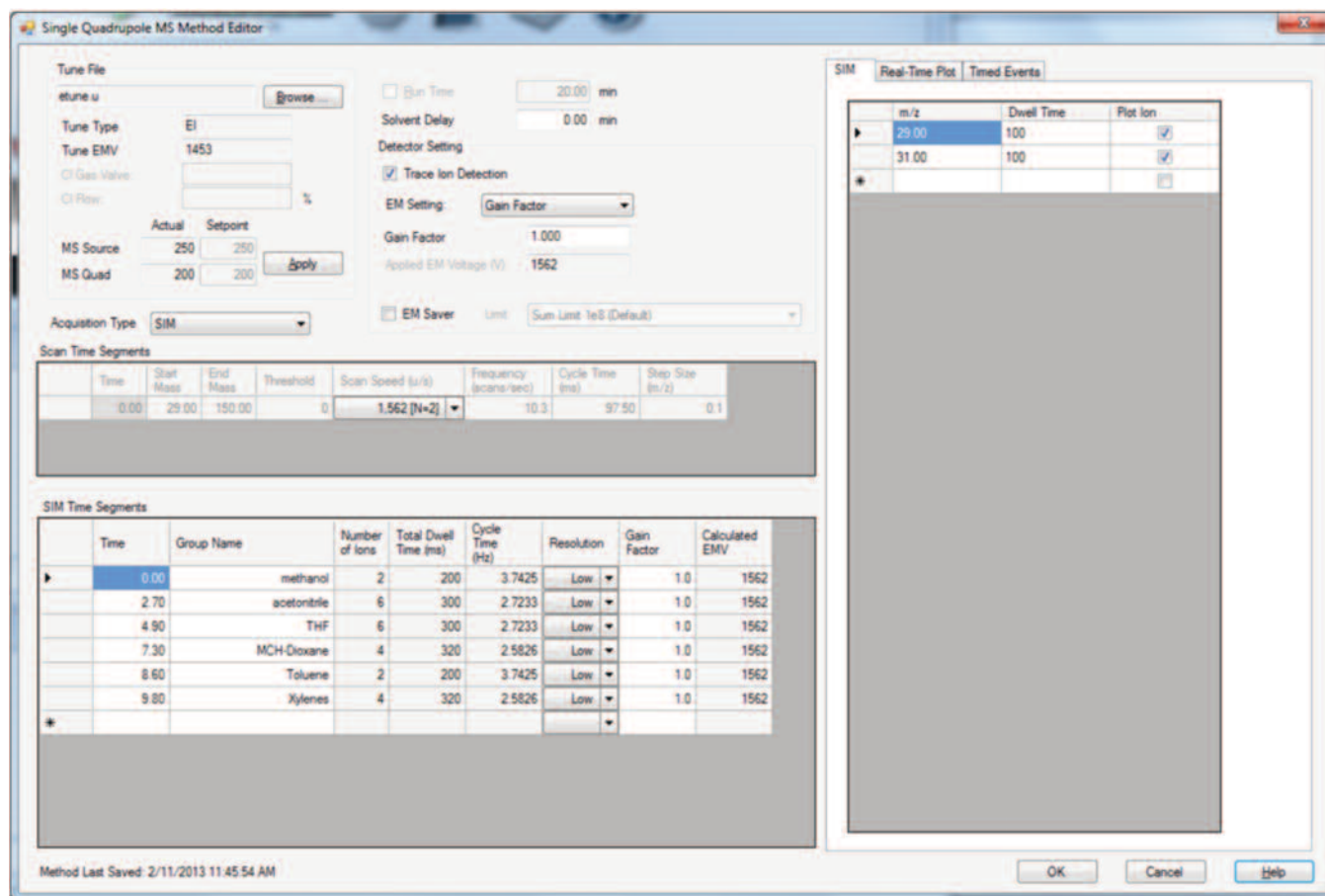


図 6. MSD ChemStation acquisition ソフトウェアの SCAN/SIM 設定 (クラス 2A)

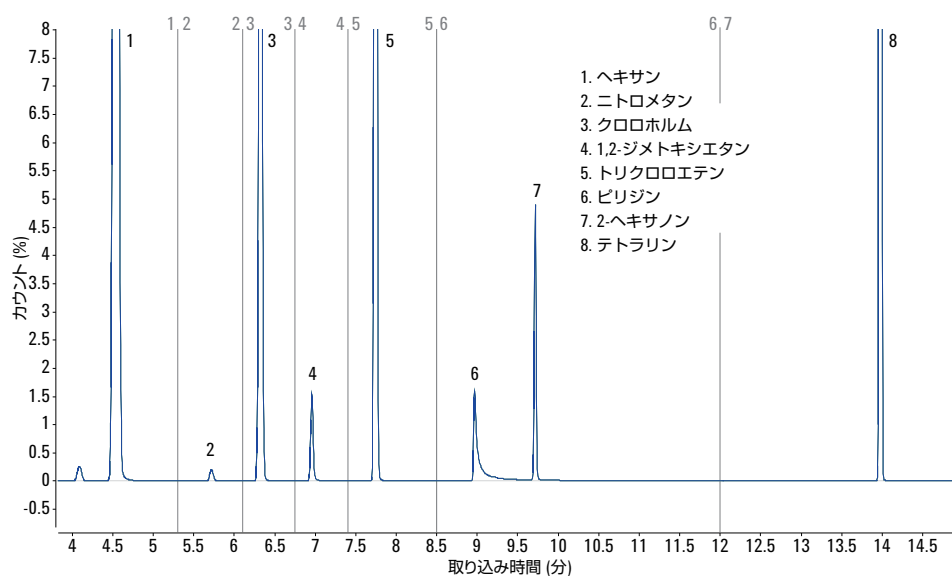


図 7. クラス 2B 溶媒の一般的な SIM のクロマトグラム

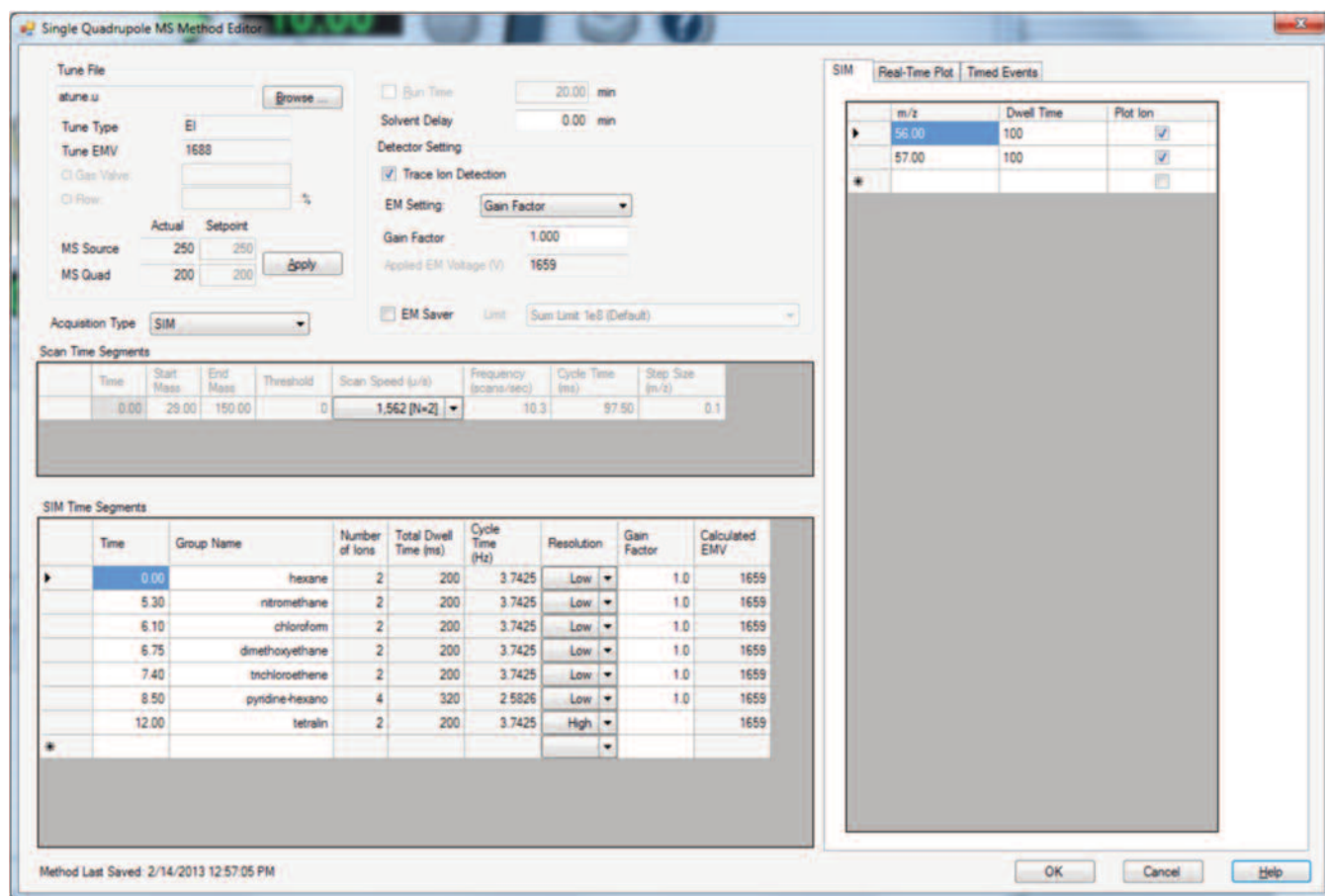


図 8. クラス 2B 溶媒の MSD ChemStation の SCAN/SIM 設定

3 つのすべての溶媒を考慮すると、624 の液相では分離が不十分な場合があります。FID システムでは、通常はデュアルカラムを使用することでこれを解決できます。この構成では、第 2 のチャンネルで INNOWax カラムが使用されるため、624 カラムとは異なる溶出順序になります。SIM で MSD を使用すると、624 カラムだけを使用したときの問題が解決されます。

一部の医薬開発と新製剤の分析では、5977 シリーズ GC/MSD システムが強力なツールとなります。このシステムは、特に USP <467> ガイドラインに従う必要がない一般的なメソッドの開発にも適しています。不明ピークまたは不明溶媒がある場合は、このシステムが使用するソリューションとして最適なものになります。既知または不明の微量不純物を検出する場合は、SIM の感度も大きな利点となります。

表 4. クラス 2B 溶媒の SIM グループ

グループ	化合物	SIM イオン
1	ヘキサン	56、57
2	ニトロメタン	46、61
3	クロロホルム	83、85
4	ジメトキシエタン	45、60
5	トリクロロエテン	130、132
6	ピリジン、2-ヘキサノン	52、58、79、85
7	テトラリン	104、132

結論

Agilent 7697A ヘッドスペースサンブラと、Agilent 7890B GC/5977 シリーズ MSD システムは、残留溶媒の分析で卓越した再現性を実現します。MSD は、API や賦形剤などの医薬品原料に含まれる溶媒不純物を調べるための強力な分析ツールとなります。これは、不明物質の同定が必要な創薬や工程管理に特に有効です。

7697A ヘッドスペースサンブラでは、不活性なサンプルバス、設定ポイント ± 0.1 °C の安定性を持つサーマルゾーン、また EPC により制御される柔軟なバイアルサンプリングのすべてがシステムの性能に寄与しています。このシステムには基本的にキャリアオーバーはありませんでした。ユーザーが (流量と時間を) プログラムできるニードル/ループパージとベントラインのパージを使用することで、分析間にシステムを効果的にクリーニングします。

この実験で概説したメソッドでは、5977 シリーズ GC/MSD システムを使用した残留溶媒分析について考えられる数多くの分析法が示されています。ラボでは、システム適合性試験を実施し、ラボで提案したメソッドが USP または ICH ガイドラインに従っていることを検証する必要があります。MSD システムは、不明物質の同定が必要になった場合に、または QA ラボでの明確な確認に特に有効です。

参考文献

1. USP 32-NF 27, General Chapter USP<467> Organic volatile impurities, United States Pharmacopeia. Pharmacopeia Convention Inc., Rockville, MD, 8/2009.
2. Albert E Gudat and Roger L. Firor, 「残留溶媒分析におけるリテンションタイム、ピーク面積再現性および感度の向上」、アジレント資料番号 5989-6079JAJP
3. Roger L. Firor, 「Agilent 7697A HSS による再現性に優れた USP467 残留溶媒分析」、アジレント資料番号 5990-7625JAJP

4. Bart Tienpont, Frank David, Pat Sandra, and Roger L. Firor, “Analysis of USP<467> Residual Solvents using the Agilent 7697A Headspace Sampler with the Agilent 7890B Gas Chromatograph”, Agilent Application Note, Publication number 5991-1834EN.
5. Roger L. Firor, 「Agilent 7890A GC と Low Thermal Mass (LTM : 低熱質量) システムを用いた USP 467 残留溶媒の高速分析」、アジレント資料番号 5990-5094JAJP
6. Roger L. Firor, “Optimizing Vial Pressurization Parameters for the Analysis of USP<467> Residual Solvents Using the 7697A Headspace Sampler”, Application Note, Publication number 5990-9106EN.

詳細情報

これらのデータは一般的な結果を示したものです。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。

本資料に記載の情報、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。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2013
Printed in Japan
March 21, 2013
5991-2079JAJP



Agilent Technologies