

Agilent Intuvo 9000 GC システムによる残留溶媒分析

革新技术：フローチップモジュール構成による
デュアルカラム分析の簡素化

はじめに

USP <467> には、医薬品の残留溶媒分析のためのメソッドが定義されています。製品製造時に選択する溶媒によって、収量が向上することもあるれば、合成する生産物の化学特性に影響が出ることもあります。溶媒が医薬品の効能を高めることはありません。医薬品の仕様と GMP (Good Manufacturing Practice) に準拠するために、溶媒を可能な限り除去する必要があります¹。したがって、製造および精製プロセス中の残留溶媒分析は必須です。

USP <467> では、リテンションタイムが異なるカラムで構成された二次システムでの確認による、シングルカラム分析が規定されています。従来型のガスクロマトグラフィシステムでは、個別の分析を 2 回実施する必要がありますが、デュアル水素炎イオン化検出器 (FID) 用の注入口スプリッタを搭載した Agilent Intuvo 9000 GC システムを用いることで、両方の分析を 1 回、かつ半分の時間で行うことができます。



詳細については、以下をご覧ください。
www.agilent.com/chem/jp

実験方法

Intuvo 9000 GC システムと 7697A ヘッドスペースサンブラを組み合わせて使用しました。USP <467> に従って、クラス 1、クラス 2A、クラス 2B 標準液 (Agilent 製) を準備して評価しました。クラス 1 標準液はアジレントの濃縮アンブル (p/n 5190-0490) から調製し、標準液 1 mL およびジメチルスルホキシド 9 mL を 100 mL の水で希釈しました (原液 1)。原液 2 は 1 mL の原液 1 を水で 100 mL に希釈して調製しました。最後に、10 mL の原液 2 を水で 100 mL に希釈して原液 3 を調製しました。原液 3 を用いてヘッドスペースバイアルに標準溶液を調製しました。

Agilent クラス 2A (p/n 5190-0492) およびクラス 2B (p/n 5190-0513) は、標準液 1 mL を水でそれぞれ 100 mL に希釈し、調製しました。

ヘッドスペースバイアルに各クラスの希釈液 1 mL を水 5 mL にスパイクして調製しました。

7697A ヘッドスペースサンブラおよびデュアルカラム、デュアル検出用の注入口スプリッタで構成された Intuvo 9000 GC システムを用いて、連続分析を行いました。

表 1 と表 2 に示した機器パラメータは、既存の分析で用いたものと同様です²。このアプリケーション用のカラムの改善を示すために、Agilent DB-624 Select ウルトライナート (UI) および Agilent DB-WAX ウルトライナート (UI) を使用しました。ガードチップとバスの追加は、Intuvo 9000 GC システムに特有のもので、導入されるサンプルは、比較的きれいなため、ジャンパーチップを選択しました。注入口からジャンパーチップを通過して注入口スプリッタまでサンプルを移送するために、注入口温度を維持しました。バスはデフォルトの設定値に維持しました。

表 1. Agilent Intuvo 9000 GC システムの機器条件

Agilent Intuvo 9000 GC	設定値
オープン	40 °C (5 分間)- 15 °C/分で 180 °C まで昇温 (3 分間)
スプリット/スプリットレス注入口	スプリット比 5:1、140 °C
DB-624 Select ウルトライナート (123-0334UI-INT) 30 m × 320 μm、1.8 μm	定流量、2 mL/min
DB-WAX ウルトライナート (123-0334UI-INT) 30 m × 320 μm、0.25 μm	カラム 1 によるコントロール
FID (フロントおよびバック)	250 °C
H ₂	30 mL/min
空気	400 mL/min
N ₂ (メークアップ)	25 mL/min
ジャンパーチップ	140 °C
バス	200 °C
フロント/バックシグナル	20 Hz

表 2. Agilent 7697A ヘッドスペースサンブラの機器条件

Agilent 7697A ヘッドスペースサンブラ	設定値
オープン	85 °C
ループ	85 °C
トランスファーライン	100 °C
バイアル平衡化時間	40 分
注入時間	0.5 分
バイアルのサイズ	10 mL
バイアル攪拌	レベル 2、25 回/min
バイアル充填モード	デフォルト (50 mL/min で 15 psi (0.1 分間))
バイアル充填圧力	15 psi
ループ昇圧速度	20 psi/min
ループ最終圧力	0 psi
バイアル平衡化	0.05 分



Agilent 7697A ヘッドスペースサンブラ

結果と考察

9 個のヘッドスペースバイアルを各溶媒標準液 (クラス 1、2A、2B) 用に準備して、再現性 (面積およびリテンションタイム) を評価しました。評価した 3 つのクラスにおいて、優れたリテンションタイム再現性が両カラムで達成されました。分析対象物の大半で、リテンションタイム再現性の相対標準偏差 (RSD) は 0.1 % 未満でした。面積再現性についても良好な結果で、分析対象物すべてで RSD が 5 % 以内でした。ほとんどの分析対象物の面積 RSD は 2 % 以内でした。表 3 ~ 5 に、デュアルカラムにおける、3 つのクラスのリテンションタイムおよび面積値を示します。

クラス 1 は最も高い面積 RSD を示しました (表 3)。クラス 1 の多段階希釈により、最終濃度は 3 つの評価対象クラスのうちの最小値です。これはサンプル前処理の再現性、機器の精度、およびピーク積分の一貫性を測るものであるため、この希釈によりばらつきが大きくなります。

クラス 2A は最良の面積精度を示しました (表 4)。評価濃度に起因する可能性が高く、クラス 1 またはクラス 2B よりも高い値でした。クラス 2B は濃度が広範囲に及ぶため、面積 RSD も広範囲となります (表 5)。低濃度の分析対象物あるいは非対称性の高い分析対象物 (n-ヘキサン、ニトロメタン、および 1,2-ジメトキシエタン) の面積 RSD はレスポンスの高い分析対象物や対称性の高いピーク (テトラリン) に比べて、わずかに高い値を示しています。リテンションタイム再現性はクラス、レスポンスあるいは対称性にかかわらず優れていました。ニトロメタン (0.4 %) を除き、すべての分析対象物のリテンションタイム再現性は 0.2 % 以内、あるいは、さらに精度が高く 0.1 % 未満でした。

表 3. Agilent Intuvo 9000 GC システムの注入ロスプリッタで評価したクラス 1 化合物のリテンションタイム精度とピーク面積の再現性

化合物	Agilent DB-624 RT RSD (%)	Agilent DB-624 面積 RSD (%)	Agilent DB-WAX RT RSD (%)	Agilent DB-WAX 面積 RSD (%)
1,1-ジクロロエタン	0.031 %	3.3 %	0.074 %	2.1 %
1,1,1-トリクロロエタン	0.026 %	2.6 %	0.037 %	1.8 %
四塩化炭素	0.11 %	4.8 %	1,1,1-トリクロロエタンとの共溶出	1,1,1-トリクロロエタンとの共溶出
ベンゼン	0.017 %	2.2 %	0.055 %	1.5 %
1,2-ジクロロエタン	0.016 %	3.9 %	0.067 %	1.8 %

表 4. Agilent Intuvo 9000 GC システムの注入ロスプリッタで評価したクラス 2A 化合物のリテンションタイム精度とピーク面積の再現性

化合物	Agilent DB-624 RT RSD (%)	Agilent DB-624 面積 RSD (%)	Agilent DB-WAX RT RSD (%)	Agilent DB-WAX 面積 RSD (%)
メタノール	0.23 %	1.3 %	0.22 %	1.3 %
アセトニトリル	0.023 %	2.1 %	0.039 %	2.0 %
塩化メチレン	0.018 %	0.98 %	0.033 %	0.78 %
trans-1,2-ジクロロエテン	0.016 %	0.85 %	0.023 %	0.72 %
cis-1,2-ジクロロエテン	0.012 %	0.76 %	0.039 %	0.78 %
テトラヒドロフラン	0.018 %	0.95 %	塩化メチレンとの共溶出	塩化メチレンとの共溶出
シクロヘキサン	0.011 %	0.96 %	0.013 %	0.96 %
メチルシクロヘキサン	0.0087 %	0.98 %	0.018 %	0.96 %
1,4-ジオキサン	0.012 %	1.9 %	0.025 %	1.7 %
トルエン	0.0073 %	0.81 %	0.029 %	0.80 %
クロロベンゼン	0.0061 %	0.69 %	0.024 %	0.69 %
エチルベンゼン	0.0060 %	0.84 %	0.016 %	0.86 %
m-キシレン	0.0061 %	0.82 %	0.017 %	0.82 %
p-キシレン		m-キシレンとの共溶出	m-キシレンとの共溶出	0.015 %
o-キシレン	0.0059 %	0.81 %	0.026 %	0.81 %

表 5. Agilent Intuvo 9000 GC システムの注入ロスプリッタで評価したクラス 2B 化合物のリテンションタイム精度と面積の再現性

化合物	Agilent DB-624 RT RSD (%)	Agilent DB-624 面積 RSD (%)	Agilent DB-WAX RT RSD (%)	Agilent DB-WAX 面積 RSD (%)
ヘキサン	0.021 %	4.4 %	0.039 %	4.5 %
ニトロメタン	0.42 %	4.9 %	0.018 %	2.5 %
クロロホルム	0.0099 %	4.8 %	0.026 %	3.2 %
1,2-ジメトキシエタン	0.013 %	3.6 %	0.089 %	3.6 %
トリクロロエタン	0.010 %	3.4 %	0.028 %	3.1 %
ピリジン	0.020 %	1.7 %	0.034 %	1.7 %
2-ヘキサノン	0.0081 %	2.7 %	0.020 %	0.74 %
テトラリン	0.0078 %	2.1 %	0.016 %	2.1 %

7697A ヘッドスペースサンブラと Intuvo 9000 GC システムによるデュアルカラム分析では、優れたクロマトグラフィー性能が得られ、両方のカラムを同時使用するという利点を実証されました。クラス 1 では、四塩化炭素が妥当な S/N 比を示し、USP <467> 要求事項への適合が実証されました (図 1)。DB-624 Select UI カラムおよび DB-WAX UI カラムはいず

れも、優れたピーク対称性および類似したレスポンスを両カラムで示しています。DB-624 Select UI では 1,1,1-トリクロロエタンと四塩化炭素が分離され、DB-WAX UI ではその分離が見られないことは (図 2)、両カラムを同時評価することの有用性を示す一例です。

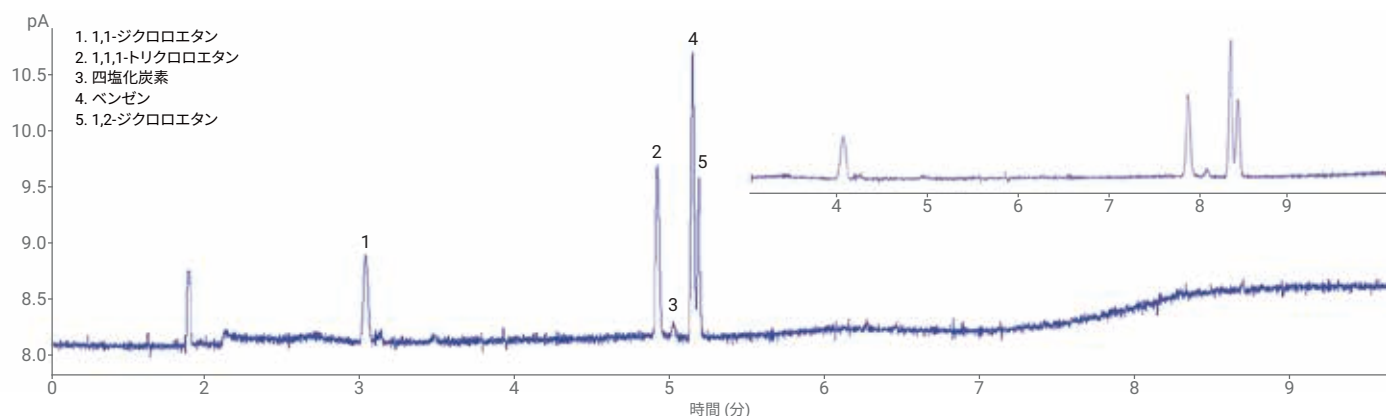


図 1. Agilent DB-624 Select UI カラムでのクラス 1 残留溶媒の分析によって、優れたクロマトグラフィーが実証され、四塩化炭素を含むすべての溶媒の S/N 比要求事項が満たされています。

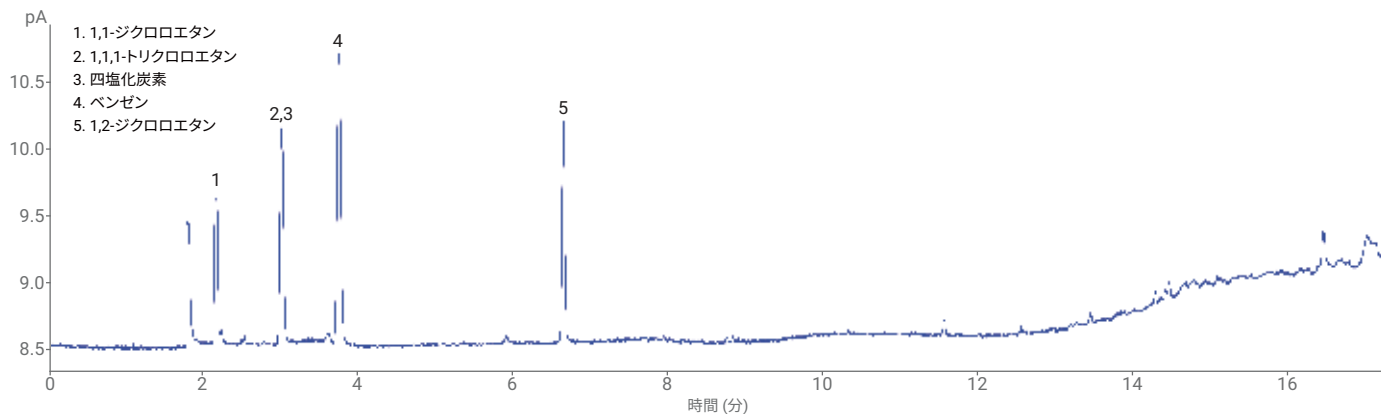


図 2. Agilent DB-WAX UI でのクラス 1 化合物の分析結果は Agilent DB-624 Select UI カラムと同じ溶出順序ですが、リテンションタイムは予想どおり変化しています。

クラス 2A でも、評価対象溶媒の優れたピーク対称性が実証されました。固定相が異なる DB-624 Select UI カラムと DB-WAX UI カラムとの間で、予想通り著しい溶出順序変化が観察されました (図 3 および 4)。クラス 1 溶媒については、DB-624 Select UI カラムで重要な分析対象物 (四塩化炭素) の分解能が良好だったのに対し、クラス 2A 溶媒では、DB-Wax UI カラムで溶媒中のキシレン異性体に対して良好な分解能が得られま

した。これは、両方のカラムを同時使用する利点を強調するものです。DB-624 Select UI (クラス 1 での性能が良好) と DB-WAX UI (クラス 2A での性能が良好) を同システム上で使用でき、両方のクラスについて最適なクロマトグラフィーが得られます。

クラス 2B は、USP <467> 残留溶媒にデュアルカラムシステムを用いる利点の最後の例を示しています。ニトロメタンは、DB-624 Select UI カラムではレスポンスが鈍く、ピーク形状が非対称です (図 5、ピーク 2)。しかし、DB-WAX UI カラムでは、ピーク形状とレスポンスが改善されます (図 6)。これは、DB-624 Select UI カラムと DB-WAX UI カラムの間のニトロメタンの面積 RSD の改善にも反映されています。

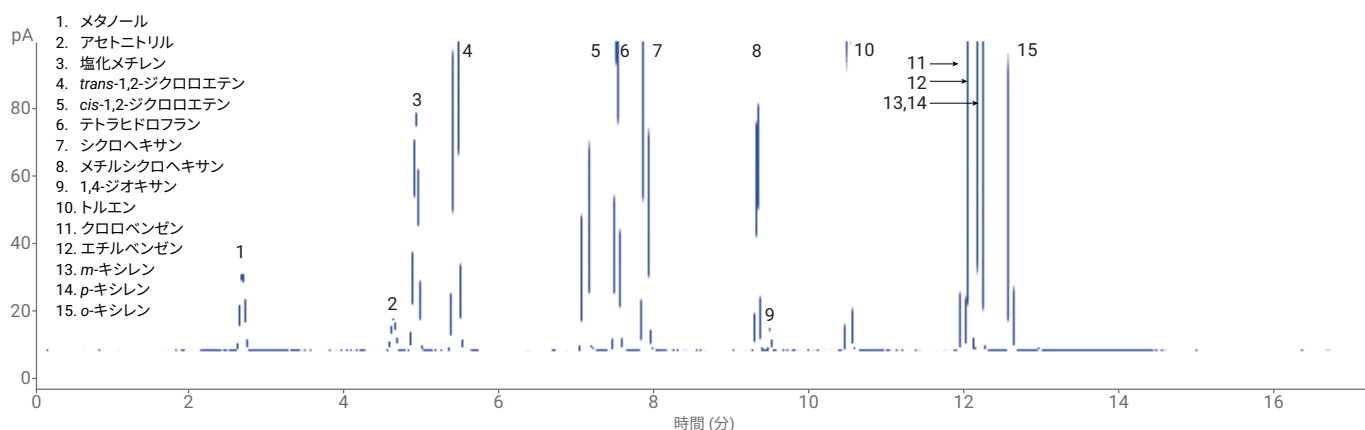


図 3. Agilent DB-624 Select UI カラムでのクラス 2A の分析により優れたピーク形状が示されています。

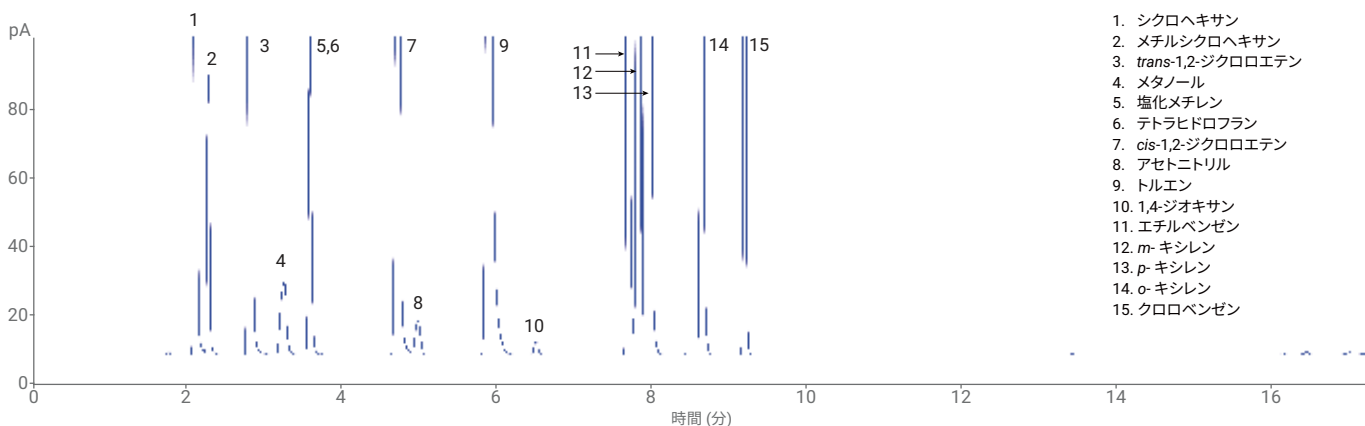


図 4. Agilent DB-WAX UI カラムでのクラス 2A の分析では、溶出順序の変化が示されています。

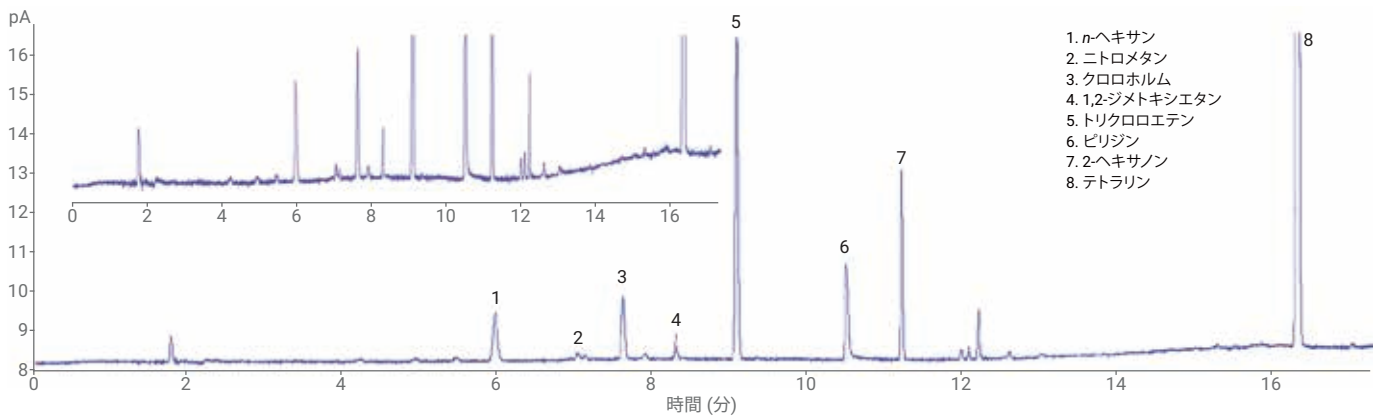


図 5. Agilent DB-624 Select UI カラムでのクラス 2B 残留溶媒の分析は、全レスポンス範囲にわたり優れたピーク形状を示しています。

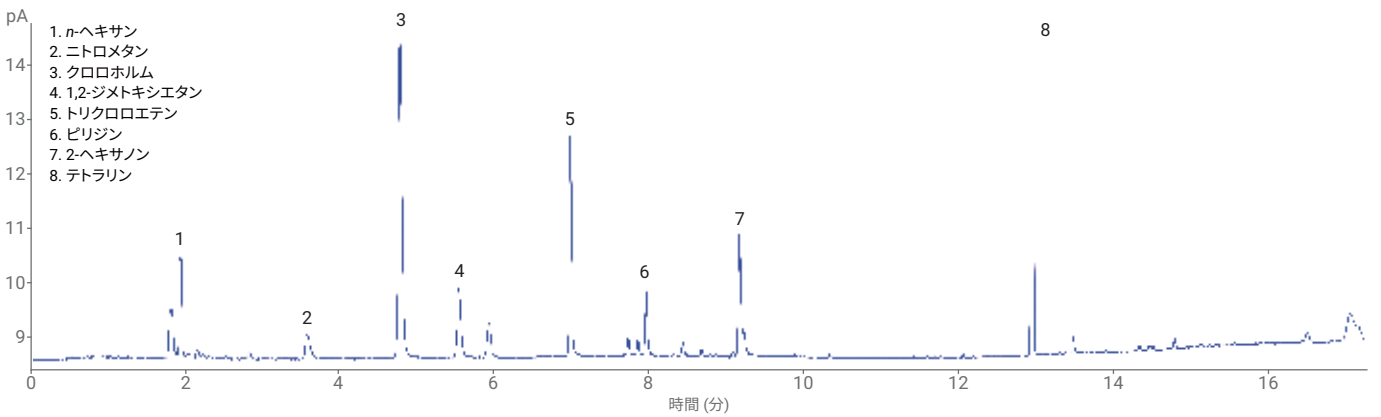


図 6. Agilent DB-WAX UI カラムでのクラス 2B 残留溶媒の分析は、ニトロメタンのピーク形状の改善を示しています。

結論

デュアルカラム、デュアル FID システム構成の Agilent 7697A ヘッドスペースサンプラを搭載した Agilent Intuvo 9000 GC システムは優れた再現性をもたらします。このシステムで得られた結果は、従来のシングルカラム GC システムにおける USP <467> の公表済みの結果と一致します^{2,3}。9 つの連続分析の面積精度は 5 % 以内であり、リテンションタイム再現性は 0.2 % 以内でした。

デュアルカラムシステムによる USP <467> 残留溶媒の評価には、さらに多くの利点があります。クラス 1 残留溶媒では Agilent DB-624 Select UI カラムで最善の分解能が示されましたが、クラス 2A 中のキシレン異性体は Agilent DB-WAX UI カラムで完全に分離されました。Intuvo 9000 GC と注入口スプリッタの構成によって、両方のカラムを同時に使用でき、2 つの固定相で達成されるクロマトグラフィーの改善を有効活用することができます。この構成により、異なる 2 つのカラムを持つシステムでサン

ルをそれぞれ個別に分析する必要がなくなり、総分析時間を半分に短縮できる可能性があります。

7697A ヘッドスペースサンプラと Intuvo 9000 GC システムを組み合わせ、デュアルカラム、デュアル FID 分析用の注入口スプリッタを構成することで、分析時間を短縮しつつ、USP <467> 残留溶媒を分析する堅牢で簡素な方法を提供することができます。

参考文献

1. USP 40, general chapter USP <467> Residual Solvents, <https://hmc.usp.org/sites/default/files/documents/HMC/GCs-Pdfs/c467.pdf> (accessed October 2017).
2. Firor, R. L. Analysis of USP <467> residual solvents with improved repeatability using the Agilent 7697A Headspace Sampler, *Agilent Technologies Application Note*, 5990-7625EN, August **2012**.
3. B. Tienport, F. David, P. Sandra. Analysis of USP <467> residual solvents using the Agilent 7697A Headspace Sampler with the Agilent 7890B Gas Chromatograph, *Agilent Technologies Application Note*, 5991-1834EN, January **2013**.

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

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。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2018
Printed in Japan, February 23, 2018
5991-9029JAJP