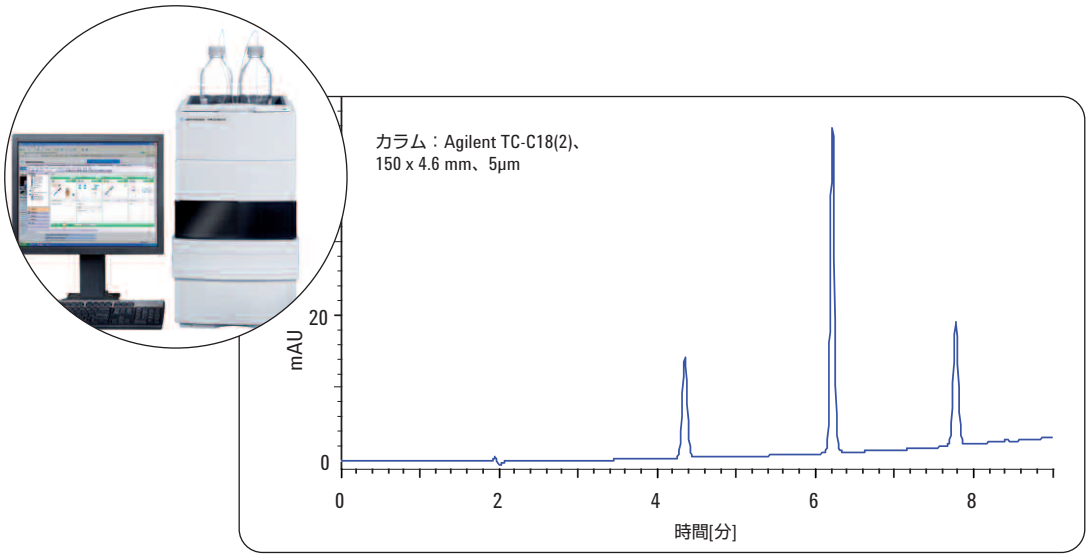
Agilent 1120 Compact LCによる アリピプラゾール合成の製造工程管理

アプリケーションノート

Siji Joseph,
Patric Hörth



概要

Agilent 1120 Compact LCは、標準的な分析スケールの分析に最適な、使いやすく、高性能で、信頼性の高い一体型LCシステムです。保持時間やピーク面積の精度がきわめて高いことから、医薬品の製造工程管理に適しています。本アプリケーションノートでは、以下のことを実証します：

- 相対標準偏差（RSD）< 0.07%という優れた保持時間精度
- 優れたピーク面積精度（RSD < 0.25%）

アジレント装置

- Agilent 1120 Compact LC
- Agilent TC-C18(2)カラム

アプリケーション分野

- 医薬品分析：QA/QC、製薬

Agilent Technologies

はじめに

医薬品有効成分（API）の製造過程では、出発原料や反応副生成物を定量的に監視することが必要不可欠です。こうした要件を満たすためには、製造工程分析と呼ばれる複数の分析を実施する必要があります。一般に使われているテクニックは、HPLCです。これはおもに、個々の分析対象成分を分離できると同時に、定性および定量分析も効果的に実施できるためです。この目的のために開発するクロマトグラフ手法には、長期間にわたる堅牢性と信頼性を維持できることが求められます。

本研究の目的は、アリピプラゾールとその合成過程中の化合物の分析を好ましい特異性と感度で実施できるHPLC手法を開発することです。本アプリケーションノートでは、逆相高速液体クロマトグラフ（RP-HPLC）を用いたアリピプラゾールの製造工程管理の利点を論じています。プロセスの各過程で採取したサンプルに関して、徹底した製造工程管理を実施できるかどうかに注目しました。

図1
Agilent 1120 Compact LC

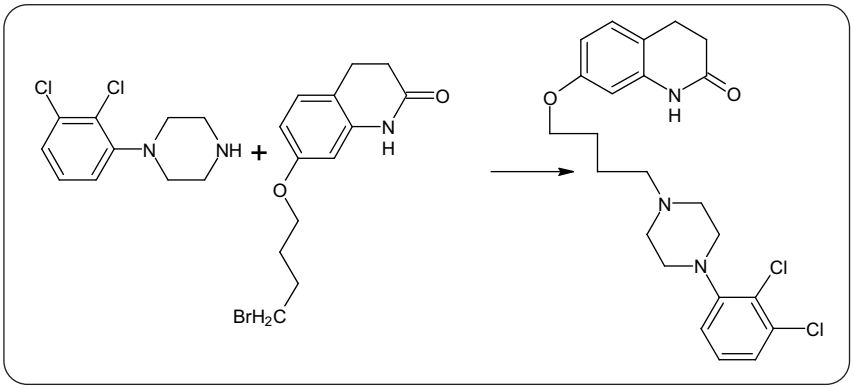


図2
出発物質1および2からのアリピプラゾールの合成

実験手法

使用装置

以下を搭載したAgilent 1120 Compact LCシステム：

- 低圧グラジエントポンプ
- オートサンプラ
- カラム恒温槽
- 可変波長UV-Vis検出器（VWD）

カラムはAgilent TC（Typical Carbon ロード）-C18（2）カラム（150 x 4.6 mm、粒子径5µm）を使用しました。装置のコントロールには、Agilent EZChrom Elite Compact ソフトウェア（コンプライアンス対応オプション使用）を用いました。

合成反応

本研究には、抗精神病薬アリピプラゾールと2つの出発物質を使用しました。アリピプラゾールの合成に用いた2つの出発物質は、1-（2,3-ジクロロフェニル）ピペラジン塩酸塩（出発物質1）と7-（4-ブロモブトキシ）-3,4-ジヒドロカルボスチリル（出発物質2）です。合成図を図2に示しています。

サンプル

製造工程管理サンプルを再現するために、さまざまな濃度の出発物質1および2と生成物アリピプラゾールを含むサンプルを用意しました。反応が進むにつれ、出発物質の濃度は減り、生成物の濃度は増加します。

分析条件

いくつかの実験を実施し、アリピプラゾールとその関連化合物の分析に関して最適な条件を決定しました。これらの実験にもとづき、以下の条件を選択しました：

- サンプル：1-(2,3-ジクロロフェニル)ピペラジン塩酸塩、7-(4-ブロモブトキシ)-3,4-ジヒドロカルボスチリル、アリピプラゾール
- カラム：Agilent TC-C18(2)、150 x 4.6 mm、5µm
- 移動相：
  A = 水 + 0.2%トリフルオロ酢酸(TFA)、
  B = アセトニトリル + 0.16%TFA
  (TFAにより保持力とピーク形状が向上します)
- 流速：1.0 mL/min
- グラジエント：0分で30%B、7分で70%B、その後2分間この比率を維持
- 注入量：5µL
- オートサンプラには、ニードル洗浄用の洗浄バイアル(アセトニトリル)を装備しました
- 分析時間：9分
- ポストタイム：5分
- 検出：UV、254 nm、
  ピーク幅(PW) > 0.05分

シーケンス表

表1に、作成したシーケンス表を示しています。3種類の化合物の濃度をバイアル2からバイアル9で変化させました。RSDを算出するために、各サンプルを3回ずつ注入しました。

ライン	ロケーション	サンプル名	注入回数	注入量 (µL)
1	バイアル1	ブランク	2	5
2	バイアル2	製造工程管理1	3	5
3	バイアル3	製造工程管理2	3	5
4	バイアル4	製造工程管理3	3	5
5	バイアル5	製造工程管理4	3	5
6	バイアル6	製造工程管理5	3	5
7	バイアル7	製造工程管理6	3	5
8	バイアル8	製造工程管理7	3	5
9	バイアル9	製造工程管理8	3	5

表1
分析シーケンス表

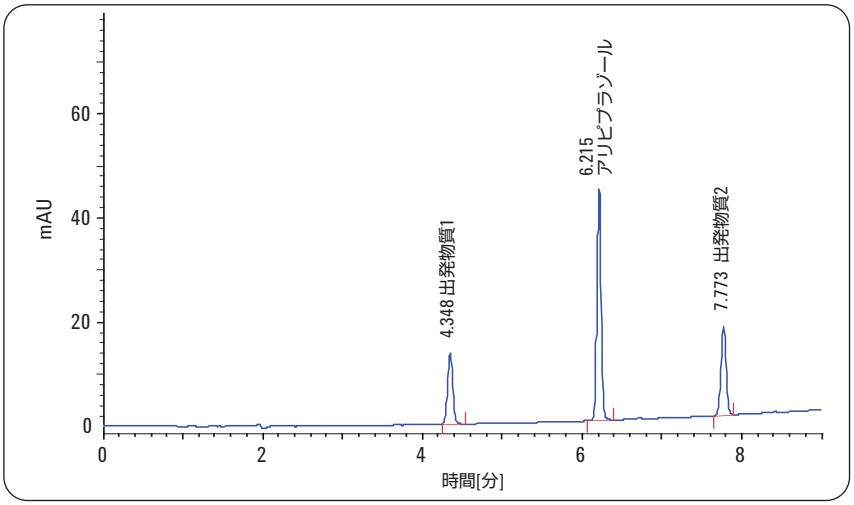


図3
アリピプラゾールと出発物質1および2のクロマトグラムと保持時間

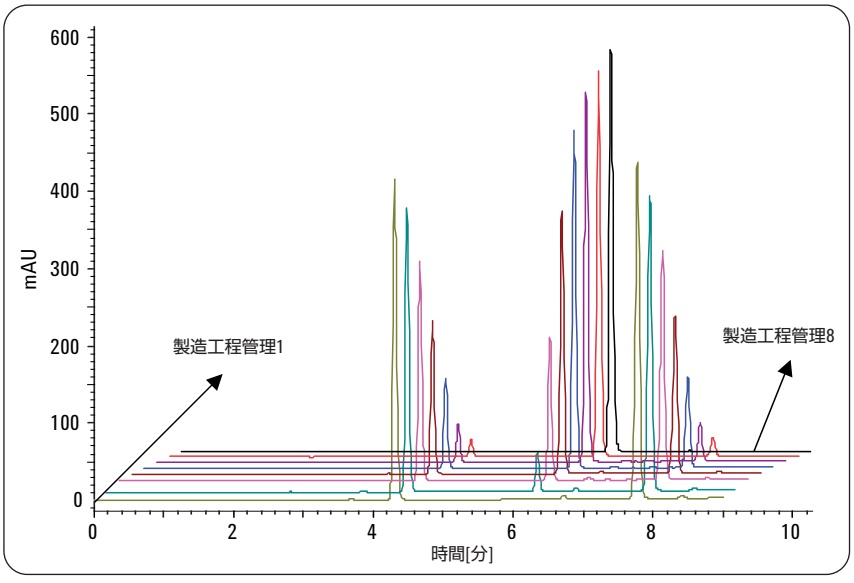


図4
各製造工程管理サンプルのクロマトグラムの重ね表示（x軸補正）

結果と考察

すべての化合物がベースラインで分離されるようにクロマトグラフ手法を設定しました。図3に、出発物質1および2と生成物アリピプラゾールを分離したクロマトグラムを示しています。分離時間は9分でした。カラム再平衡化時間を含む総分析時間は14分以内でした。

図4に、本反応モニタリング分析の各クロマトグラムを重ねて表示しています。

図5では、最終段階の製造工程管理サンプルを3回にわたって注入した分析と、ブランク分析のクロマトグラムを重ねて表示しています。製造工程管理サンプルには、アリピプラゾールと出発物質1が含まれ、主成分に対する出発物質1の濃度は0.025%でした。出発物質の溶出時間付近のズームイン図も示しています。

標準混合物質8種類の3回の繰り返し分析により、日間変動を評価しました。各製造工程管理サンプルの3回の注入における保持時間および面積精度を、表2にまとめています。各成分のRSDはいずれも0.25%を下回りました。

まとめ

アリピプラゾールと合成過程に含まれる成分を、同時に測定するためのHPLC手法を開発しました。また、このクロマトグラフ手法がアリピプラゾール合成の製造工程管理に役立つことも実証しました。Agilent 1120 Compact LCシステムは製造工程管理に適したシステムで、保持時間および面積精度に優れ、再現性の高い結果を得られます。本研究では、保持時間精度は <0.06%RSD、ベースライン分離したピークの面積精度は <0.23% RSDでした。

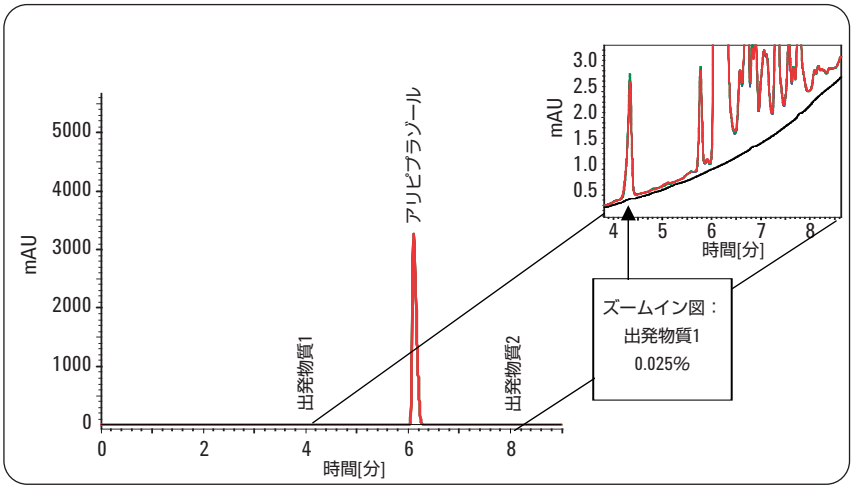


図5
主成分に対する濃度が0.025%の時点における出発物質1のクロマトグラムのズームイン図

サンプル	保持時間のRSD			面積のRSD		
	出発物質1	アリピプラゾール	出発物質2	出発物質1	アリピプラゾール	出発物質2
1	0.059 %	------	0.012 %	0.144 %	No peak	0.096 %
2	0.022 %	0.016 %	0.012 %	0.084 %	0.086 %	0.077 %
3	0.022 %	0.027 %	0.012 %	0.184 %	0.209 %	0.181 %
4	0.022 %	0.016 %	0.012 %	0.169 %	0.207 %	0.177 %
5	0.039 %	0.016 %	0.012 %	0.198 %	0.228 %	0.212 %
6	0.022 %	0.016 %	0.000 %	0.186 %	0.134 %	0.192 %
7	0.022 %	0.016 %	0.012 %	0.122 %	0.102 %	0.121 %
8	0.028 %	0.016 %	0.012 %	0.222 %	0.122 %	0.212 %

表2
製造工程管理サンプル分析のサマリー

Siji Josephは、Agilent Technologies ライフサイエンスセンター（インド）のアプリケーションサイエンティストです。Patric Hörthは、Agilent Technologies（ドイツ）のR&Dケミストです。

www.agilent.com/chem/jp

本文書掲載の機器類は薬事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。

© 2008 Agilent Technologies Inc.

Printed in Japan, Published April 1, 2008
5989-8330JAJP.

Agilent Technologies