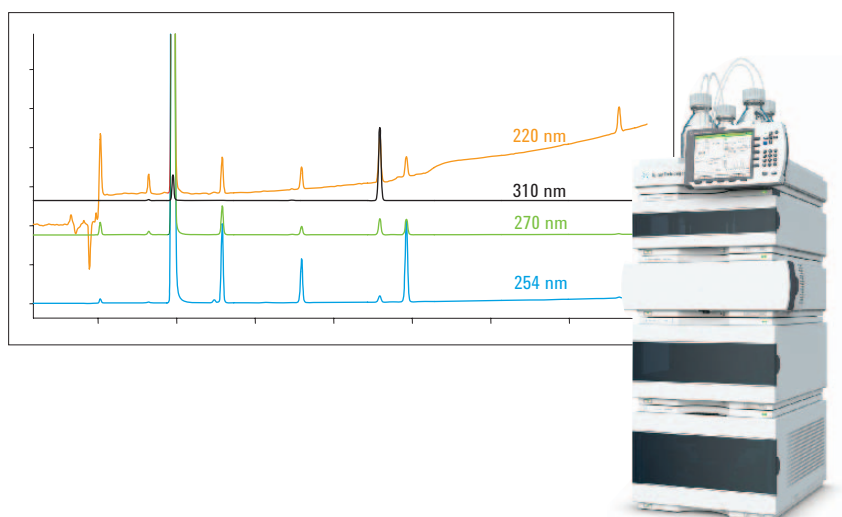


# インテリジェントシステム エミュレーション技術 (ISET) を用いた Agilent 1290 Infinity LC での メソッド開発と、 Agilent 1100 シリーズ LC への変換 鎮痛剤の分析

## 著者

A.G.Huesgen  
Agilent Technologies, Inc.  
Waldbronn, Germany



## 概要

アジレントのインテリジェントシステムエミュレーション技術 (ISET) は、大きいディレイボリュームと異なる混合特性を持つ従来の LC システムから Agilent 1290 Infinity LC システムへの、またはその逆のシームレスなメソッド変換を可能にします。1290 Infinity LC システムで開発したメソッドは、最初に ISET を使用した 1290 Infinity LC システムで対象の LC をエミュレートすることにより別の LC システムのメソッドに変換することができます。ここから、1290 Infinity LC システムで開発したメソッドが対象の LC システムで動作するかどうかの有効な情報が得られます。この技術概要では、ISET を使用した 1290 Infinity LC システムでパラセタモールとその不純物質を分析するためのクロマトグラフィーメソッドを開発する方法について説明します。メソッドを開発した後、このメソッドを Agilent 1100 シリーズクォータナリ LC システムのメソッドに変換しました。さまざまな実験のリテンションタイムと分離能を評価し、ISET を使用した 1290 Infinity LC システムで取得したデータと比較しました。



Agilent Technologies

## はじめに

医薬品業界では、QA/QC のメソッド開発は R&D 部門で行います。多くの場合、R&D で使用している機器は、QA/QC 部門に日常的に配置されるものとは異なります。この結果、問題が発生することがあります。これは、開発し、バリデーションしたメソッドが、異なる LC システムのメソッドに変換されたときに要件を満たさないことがあるからです。ISET を使用した 1290 Infinity LC システムでは、対象の LC をエミュレートし、メソッドが別の LC システムでも問題なく動作し、リテンションタイムと分離能について同一の結果を提供するかどうかを確認できます。

この技術概要では、1290 Infinity LC システムでパラセタモールとその不純物質を分析するためのメソッドを開発する方法について説明します。メソッドが完成した後、ISET を使用した 1290 Infinity LC システムで対象の LC、つまり 1100 シリーズクォータナリ LC システムをエミュレートし、開発したメソッドが 1100 シリーズ LC システムに適切であるかどうかを確認しました。後に、このメソッドを 1100 シリーズクォータナリ LC システムのメソッドに変換し、ISET を使用した 1290 Infinity LC システムで取得したデータとその結果を比較しました。

## 実験方法

### 機器とソフトウェア

次のモジュールで構成される Agilent 1290 Infinity LC システムをこの実験に使用しました。

- Agilent 1290 Infinity バイナリポンプ (G4220A)
- Agilent 1290 Infinity オートサンブラ、サーモスタット付き (G4226A、G1330B)
- Agilent 1290 Infinity カラムコンパートメント (G1316C)
- Agilent 1260 Infinity ダイオードアレイ検出器 (G4212A)

次のモジュールで構成される Agilent 1100 シリーズ LC をこの実験に使用しました。

- Agilent 1100 シリーズクォータナリポンプ (G1311A)
- Agilent 1100 シリーズオートサンブラ (G1311A)
- Agilent 1100 シリーズカラムコンパートメント (G1316C)
- Agilent 1100 シリーズダイオードアレイ検出器 (G1315B)

Agilent ChemStation リビジョン C.01.03 および ISET リビジョン 1.0 を実験に使用しました。すべての LC モジュールのファームウェアリビジョンは A.06.32、B.060.32、または B.06.41 以降で、すべてのモジュールに RC.Net ドライバを使用しました。

### サンプル

次の化合物を混合したものを実験に使用しました。

主要化合物:	パラセタモール
不純物 A:	2-アセトアミドフェノール
不純物 B:	N-(4-ヒドロキシフェニル) プロバミド
不純物 F:	ニトロフェノール
不純物 H:	4-(アセチルアミノ) 酢酸フェニル (N,O-ジアセチル-4-アミノフェノール)
不純物 J:	4-クロロアセトアニリド
不純物 K:	4-アミノフェノール

### 分析条件

カラム:	Agilent ZORBAX SB C18、150 × 4.6 mm、5 μm (883975-902)
移動相:	水 + 0.1 % TFA、アセトニトリル + 0.09 % TFA
流量:	1.0 mL/min
グラジエント:	5 % ACN (0 分)、90 % ACN (20 分)
ストップタイム:	20 分 ポストタイム: 5 分
注入量:	5 μL
カラム温度:	30 °C
検出:	220、254、270、310/10 nm、参照 400/ 60 nm、5 Hz、スリット 4 nm

## 結果と考察

### 1290 Infinity LC システムでの メソッド開発

分離はコンベンショナル LC の分析条件を使用して行いました。カラム寸法は 150 x 4.6 mm (長さ x 内径) で、粒子サイズは 5  $\mu\text{m}$  でした。不純物 K の保持を上げるために、リニアグラジエントを用い、低い有機溶媒濃度で開始しました。20 分後の移動相組成には 90 % の有機溶媒が含まれており、適切な時間内に不純物 A が溶出しました (図 1)。すべての化合物をその最大吸光度において高い感度で定量するためには異なる波長が必要でした。

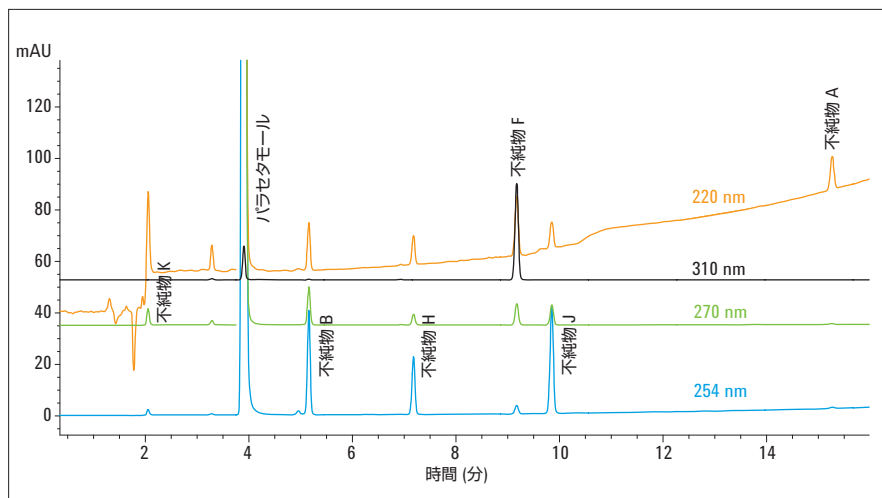


図 1  
異なる波長におけるクロマトグラムの重ね表示

UV スペクトル (図 2) により、最適な波長 (表 1) を選択するための情報が得られました。

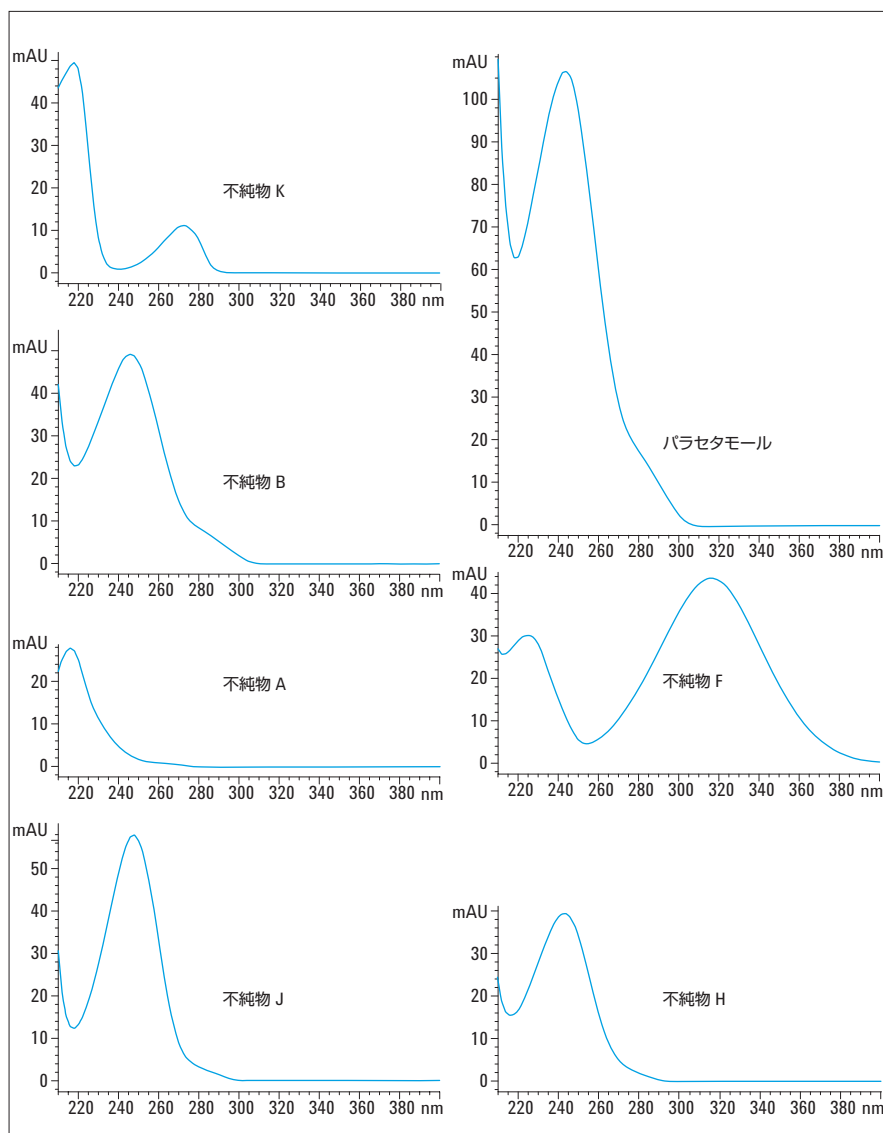


図 2  
パラセタモールとその不純物質の UV スペクトル

化合物	検出器波長
不純物 K	270 nm (優れた選択性)
パラセタモール	270 nm (直線性範囲内)
不純物 B	254 nm (最大吸光度)
不純物 H	254 nm (最大吸光度)
不純物 F	310 nm (最大吸光度)
不純物 J	254 nm (最大吸光度)
不純物 A	220 nm (最大吸光度)

表 1  
パラセタモールとその不純物質の最適な波長

### ISET を使用した 1290 Infinity LC システムでの 1100 シリーズクォータナリ LC システムのエミュレーションと、1100 シリーズクォータナリ LC システムへのメソッド変換

1100 シリーズクォータナリ LC システムをエミュレートするために、1290 Infinity LC システムの ISET ツールを有効にしました。ISET を使用した 1290 Infinity LC システムに完成したメソッドを適用し、このメソッドが 1100 シリーズ LC システムで動作するかどうかの概要を確認しました。次に、このメソッドを 1100 シリーズクォータナリ LC システムのメソッドに変換しました。ISET を使用した場合と使用していない場合に 1290 Infinity LC システムで取得したクロマトグラムと、1100 シリーズクォータナリ LC システムで取得したクロマトグラムの合計で 3 つのクロマトグラムを比較しました (図 3)。

ISET を使用した 1290 Infinity LC システムでのリテンションタイムと分離能は、1100 シリーズクォータナリ LC システムと優れた一致を示しました。1100 シリーズ LC システムとこれらのリテンションタイムとの偏差を図 4 に組み合わせて示します。

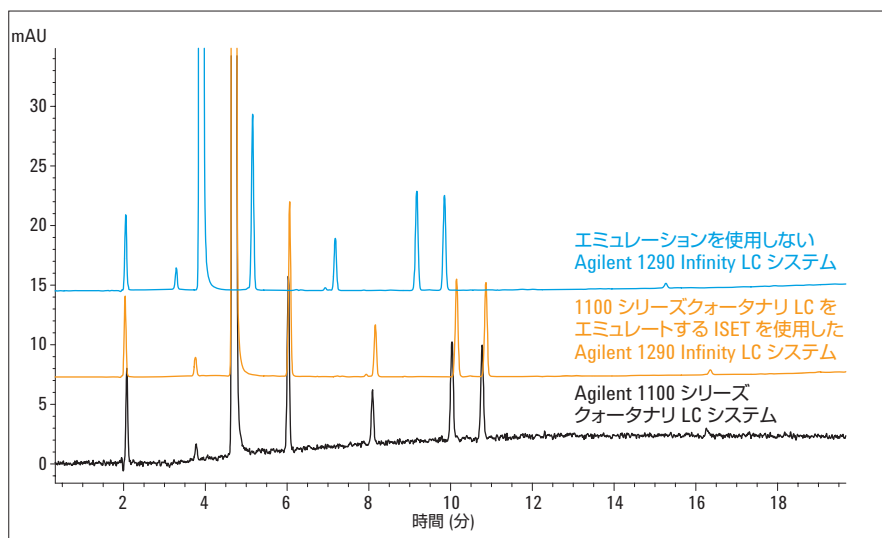


図 3  
Agilent 1290 Infinity LC システム、ISET を使用した Agilent 1290 Infinity LC システム、および Agilent 1100 シリーズクォータナリ LC システムで取得した 270 nm におけるクロマトグラムの重ね表示

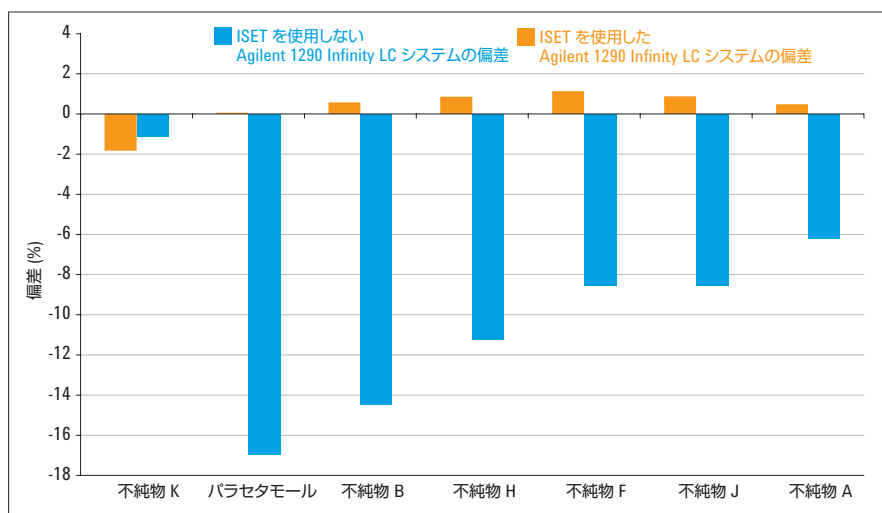


図 4  
ISET を使用した場合/使用しない場合の Agilent 1290 Infinity LC システムのリテンションタイムを Agilent 1100 シリーズクォータナリ LC システムのデータと比較したときのリテンションタイムの偏差

ISET を使用した 1290 Infinity LC システムのリテンションタイムの偏差は 0.5～1.9 % でした。ISET を使用しない 1290 Infinity LC システムのリテンションタイムの偏差は最大で 17 % でした。分離能データを読み取った結果を組み合わせると図 5 に示します。

ISET を使用した 1290 Infinity LC システムの分離能の偏差は 0.11～2.4 % でした。ISET を使用しない 1290 Infinity LC システムの分離能の偏差は最大で 31 % でした。

## 結論

パラセタモールとその不純物の分析用に Agilent 1290 Infinity LC システムで開発したメソッドを、Agilent 1100 シリーズクォータナリ LC システムのメソッドにシームレスに変換しました。変換を容易にするために、1290 Infinity LC システムの ISET 機能をアクティブにして、1100 シリーズ LC システムをエミュレートしました。この結果、開発したメソッドが対象の 1100 シリーズ LC システムで動作するかどうかの情報が得られました。1100 シリーズ LC システムと、ISET を使用した 1290 Infinity LC システムで取得したリテンションタイムと分離能の結果を比較しました。

リテンションタイムの差は 1.9 %、分離能の差は 2.4 % 未満でした。

## 参考文献

1. 「インテリジェントシステム  
エミュレーション技術 ISET 搭載  
Agilent 1290 Infinity LC」、  
アジレント資料番号  
5990-8670JAJP, 2011

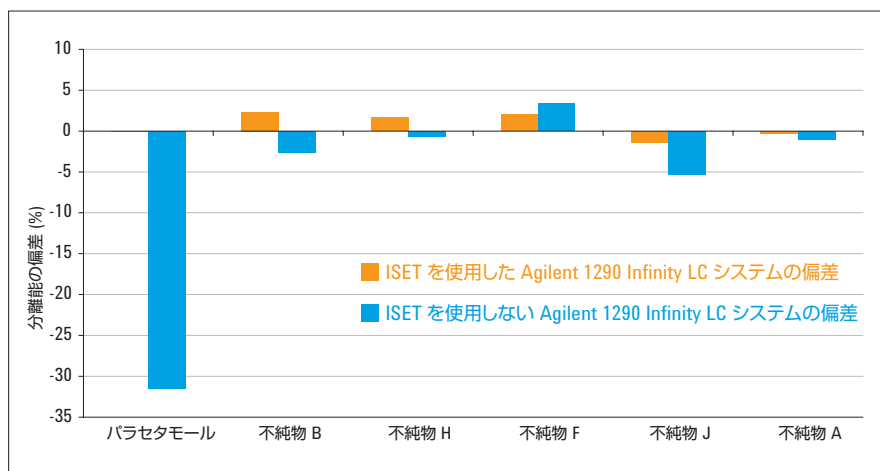


図 5  
ISET を使用した場合/使用しない場合の Agilent 1290 Infinity LC システムの分離能を Agilent 1100 シリーズクォータナリ LC システムで得られたデータと比較したときの偏差



[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)

アジレント・テクノロジー株式会社  
© Agilent Technologies, Inc., 2012  
Published in Japan, January 1, 2012  
5990-9715JAJP



**Agilent Technologies**