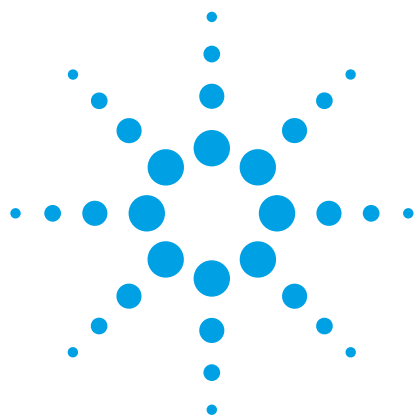




Agilent J&W DB-Select 624UI USP <467> カラムによる残留溶媒分析

アプリケーションノート

生物医薬品、バイオフーマ

著者

Ken Lynam
Agilent Technologies, Inc.

概要

このアプリケーションノートでは、USP 残留溶媒試験において、メソッドに特化して設計およびテストされた Agilent J&W DB-Select 624UI USP <467>、30 m x 0.32 mm、1.8 μ m カラムを使用する利点を紹介します。USP <467> 残留溶媒試験を成功と見なすための重要なクロマトグラフィー基準は、重要なピーク対の分離、許容範囲内のシグナル/ノイズ比の実現、ピリジンのピーク形状です。新しい DB-Select 624UI <467> カラムを用いたクラス 1、2A、2B 標準のクロマトグラム例を、一般的な他メーカーのカラムで得られた結果と比較しています。

はじめに

処理中間体、賦形剤、調剤医薬品の残留溶媒試験は、世界中の医薬品の安全性を確保するための重要な安全機構となります。米国薬局方 (USP) ゼネラルチャプター <467> 残留溶媒に加えられた変更は、日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (ICH) の残留溶媒に関する Q3C ガイドラインと密に連携したものです [1,2]。どちらの組織も、そうした溶媒や揮発性有機不純物 (OVI) の存在が公衆衛生に与える危険度の評価において、毒性/用量ベースのアプローチを採用しています。分析は一般に、厚フィルム G43 ベース固定相を用いて、静的ヘッドスペースと FID 検出によりおこなわれます [3]。



Agilent Technologies

媒クラスは、人体での発癌性や環境への悪影響が知られている、または疑われる物質で構成されます。目標限界値は 1 桁台前半の mg/L の範囲です。ただし、環境に害があるとされる 1,1,1-トリクロロエタンは例外です。規定の濃度でクラス 1 の安定性を評価する場合には、いくつかのクロマトグラフィー上の難問があることが知られています。

このクラスの各溶媒については、3:1 という最小シグナル/ノイズ比が定められています。このレベルで四塩化炭素を FID で検出するのには困難が伴います。注目すべきもう 1 つの点は、ベンゼンと 1,2-ジクロロエタンという重要なピーク対の分離です。

クラス 2 溶媒は、毒性が低いとされていますが、使用は制限されています。このクラスの目標限界値は 50~3880 mg/L です。2A 溶媒グループでは、アセトニトリルとジクロロメタンの分離に関して、1.0 以上の分離限界値が設定されています。2B 溶媒グループの分析を追跡する際には、1,4-ジオキサンの検出器レスポンスと、メチルシクロヘキサンとピリジンの各ピークの分離が、クロマトグラフィー上の重要点となります。

クラス 3 溶媒は、毒性が低いとされ、クラス 1 やクラス 2 の溶媒よりも人体に対する危険性が低い物質です。これらの物質については、1 日あたり 50 mg または 5,000 mg/L の曝露限界が妥当な許容範囲であると考えられています。これらの物質のなかには、G43 相で他の溶媒と共溶出するものがあり、G16 ベースの固定相を用いた手順 B による追加分析が必要となることもあります。このクラスの溶媒については、ウェブサイトでクロマトグラム例とピーク保持テーブルを紹介しています。

この実験では、Agilent J&W DB-Select 624UI USP <467> カラムを使用しました。この新しいカラムでは、メソッドに特化した設計と堅牢な不活性テストにより、USP <467> 残留溶媒試験の要件を満たす、あるいは上回る結果を一貫して得ることができます。DB-Select 624UI <467> は、USP の指定するガスクロマトグラフィー相 G43 に相当します。

使用機器

一連の実験には、マルチモード注入口 (MMI)、FID 検出器、Agilent 7697A ヘッドスペースサンブラ、MSD Chem Station E.02.02 ソフトウェアを搭載した Agilent 7890/5975C GC/MS システムを使用しました。

GC/ヘッドスペース分析のクロマトグラフィー条件

カラム:	Agilent J&W DB-Select 624UI USP <467>、 30 m x 0.32 mm、1.8 µm (p/n 123-0364UI)
キャリア:	ヘリウム、2.2 mL/min、コンスタントフロー、40 °C
オープン:	40 °C (20 分)~10 °C/min~240 °C (5 分)
注入口:	MMI 注入口、140 °C、1 µL スプリット 5:1
サンプル量:	1.0 mL ループ
注入口ライナ:	1 mm ストレートシングルテーパーウルトラライナート ライナ (p/n 5190-4047)
FID:	250 °C、H ₂ 30 mL/min、空気 400 mL/min、 N ₂ コンスタントカラム + メークアップ = 30 mL/min

消耗品

バイアル:	20 mL 平底、クリンキャップヘッドスペースバイアル (100 個、p/n 5182-0837)
バイアルキャップ:	ヘッドスペースクリンキャップ/高性能セプタム (100 個、5190-3987)
クリンパ:	20 mm オートクリンパ (p/n 5190-3189)
トランスファー ライン:	0.53 mm 不活性フューズドシリカ (5 m、p/n 160-2535-5)
フィッティング:	1/6~1/32 リデュースングフィッティング (p/n 0100-2594)
セプタム:	ノンスティック、ブリード、温度最適化セプタム (50 個、p/n 5183-4757)
注入口ライナ:	1 mm ストレートシングルテーパーウルトラライナート ライナ (p/n 5190-4047)
ゴールドシール:	ゴールドシール、ワッシャつき (10 個、p/n 5190-2209)
フェラル:	0.5 mm id ショートフェラル、85/15 ベスベル/ グラファイト (10 個、p/n 5062-3514)
拡大鏡:	20 倍拡大ルーペ (p/n 430-1020)

標準物質

クラス 1:	USP 467 クラス 1 (p/n 5190-0490)
クラス 2A:	USP 467 クラス 2A (p/n 5190-0492)
クラス 2B:	USP 467 クラス 2B (p/n 5190-0513)

標準物質の前処理

USP クラス 1、クラス 2A、クラス 2B 標準を、USP ゼネラルチャプター <467> メソッドに従って、図 1 に示す方法で前処理しました。ジメチルスルホキシド (99.5 %) は Sigma Aldrich (セントルイス、ミズーリ州 63101、米国) から購入しました。

脱イオン水はラボ内の水精製システムにより作成しました。

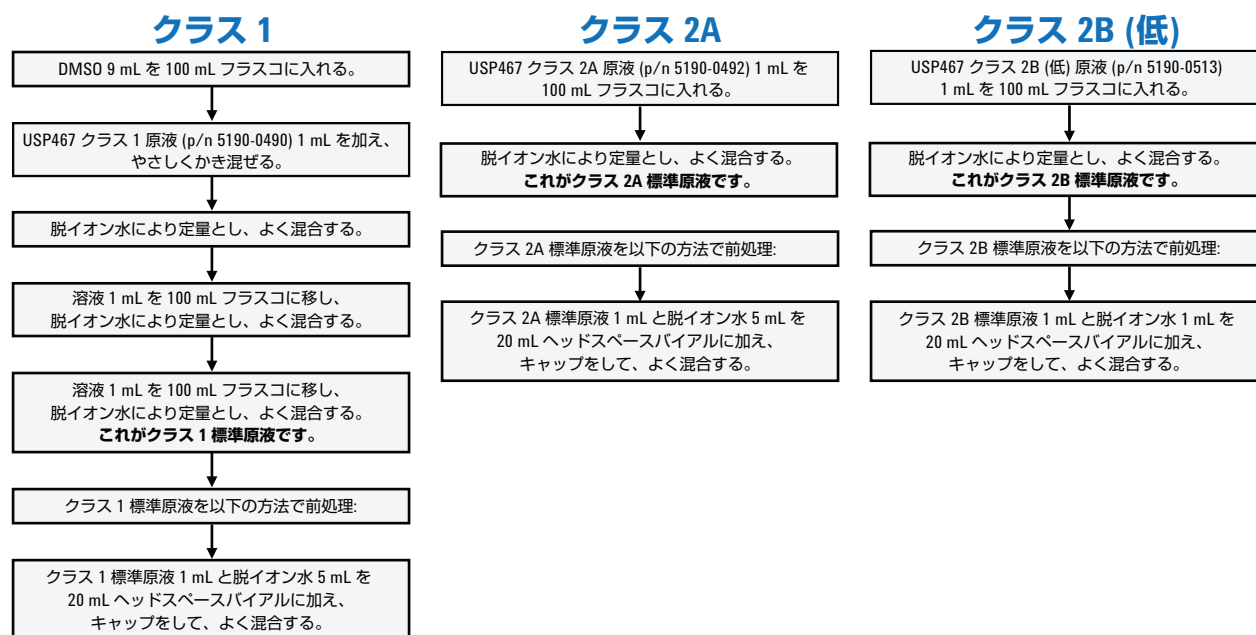


図 1. 水溶性物質用の USP 467 標準前処理手順 A 関連項目

結果と考察

クラス 1 標準におけるカラム性能

3:1 以上という四塩化炭素のシグナル/ノイズ比要件は、FID 特有の検出下限では困難になることがあります。厳密に監視すべきもう一つのクロマトグラフィー要素は、ベンゼンと 1,2-ジクロロエタンの分離です。図 2 は、DB-Select 624UI <467> キャピラリカラムにクラス 1 標準をヘッドスペース注入して得られた結果を示

しています。四塩化炭素のシグナル/ノイズ比は 6.85 で、ベンゼンと 1,2-ジクロロエタンの分離能 (R_s) は 1.82 でした。

図 3 には、クラス 1 標準の重要セクションの拡大図を示しています。この図を見ると、他メーカーの G43 カラムでは、同等の結果が得られていないことがわかります。これらのカラムは、同じ寸法のものを用いて、同じ条件下で同じ機器によりテストしました。あるメーカーのカラムでは、四塩化炭素のシグナル/ノイズ比要件を満たせませんでした。

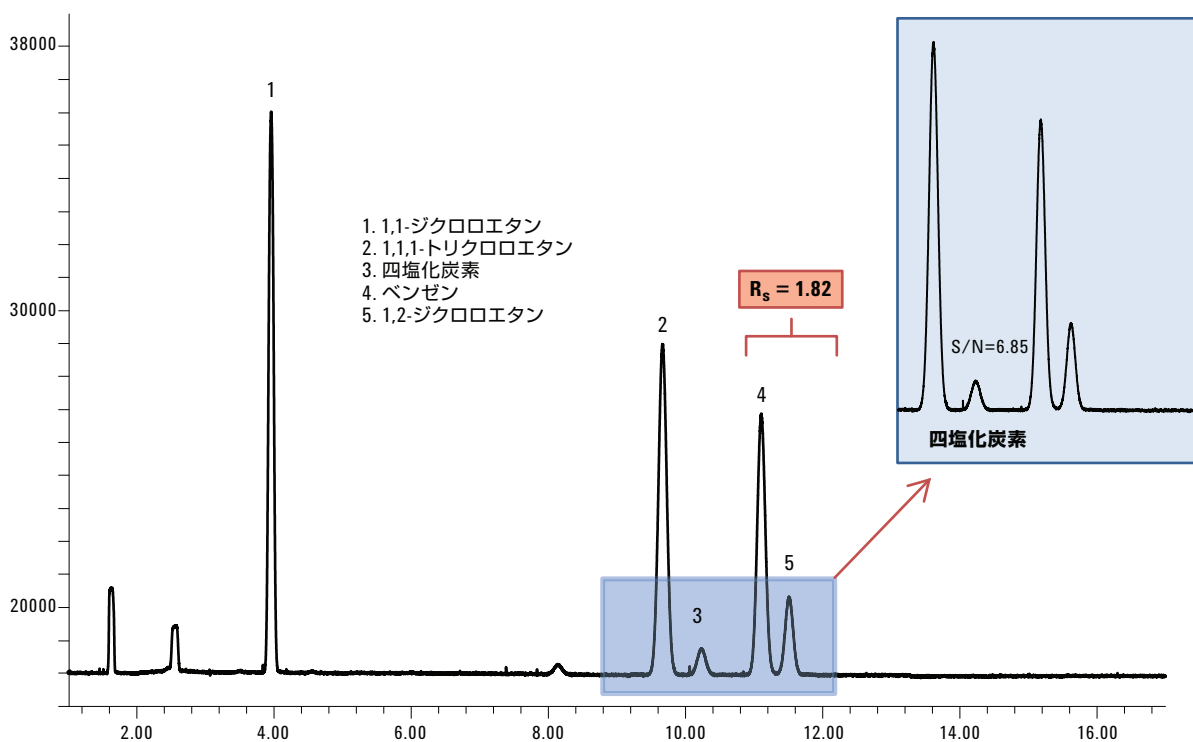


図 2. Agilent J&W DB-Select 624UI USP <467>, 30 m x 0.32 mm, 1.8 μ m カラム (p/n 123-0364UI) を用いて分析した、USP <467> 規定限界値のクラス 1 溶媒標準の FID トレース

DB-Select 624UI <467>

ベンダー X G43

ベンダー Y G43

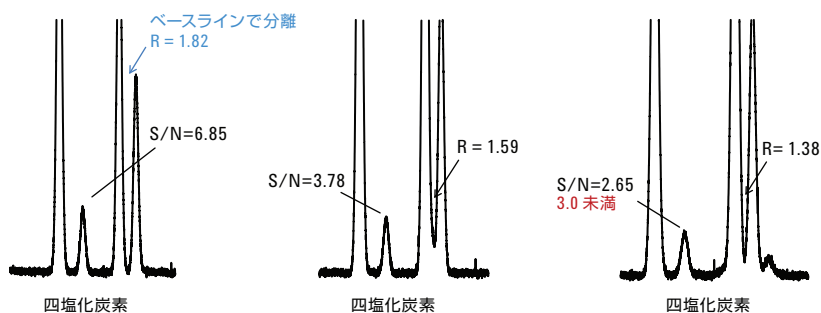


図 3. Agilent J&W DB-Select 624UI USP <467> カラムと他メーカーの G43 相カラムにおける、ベンゼン/1,2-ジクロロエタンピーク対の分離と四塩化炭素のシグナル/ノイズ比。ベンダー Y のカラムでは、四塩化炭素のシグナル/ノイズ比の要件が満たされていません

クラス 2A 標準におけるカラム性能

クラス 2A では、アセトニトリル/ジクロロメタンという重要なピーク対の分離能が 1.0 以上と定められています。図 4 では、DB-Select 624UI <467> カラムを使えば、このピーク対で 2.13 という分離能が得られることが示されています。クラス 2A 標準で監視すべきもう 1 つのクロマトグラフィー要素は、1,4 ジオキサンの

380 mg/L におけるレスポンスと、3,880 mg/L という高い許容限界値をもつメチルシクロヘキサンとの分離です。

図 5 では、DB-Select 624UI <467> カラムと他の 2 メーカーの G43 カラムについて、アセトニトリル/ジクロロメタンのピーク対の分離能を比較しています。これらのカラムは、同じ寸法のものを用いて、同じ条件下で同じ機器によりテストしました。

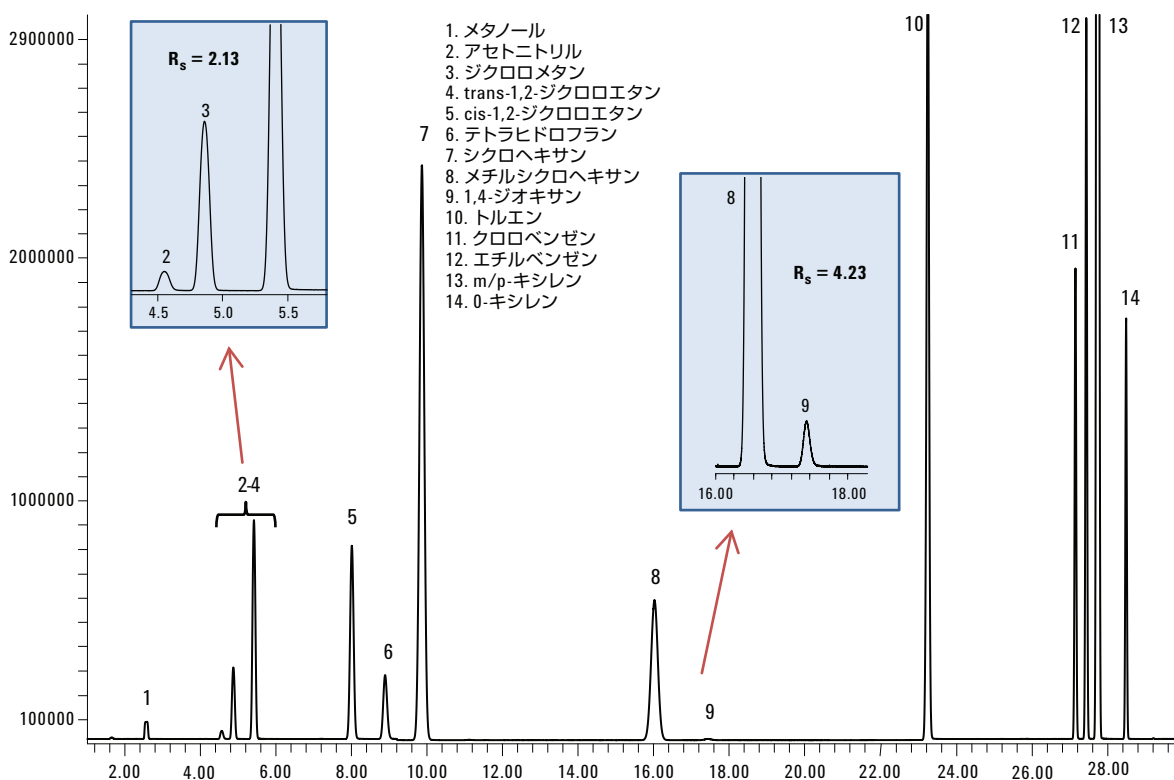


図 4. Agilent J&W DB-Select 624UI USP <467>, 30 m x 0.32 mm, 1.8 μ m カラム (p/n 123-0364UI) を用いて分析した、USP < 467> 規定限界値のクラス 2A 溶媒標準の FID トレース

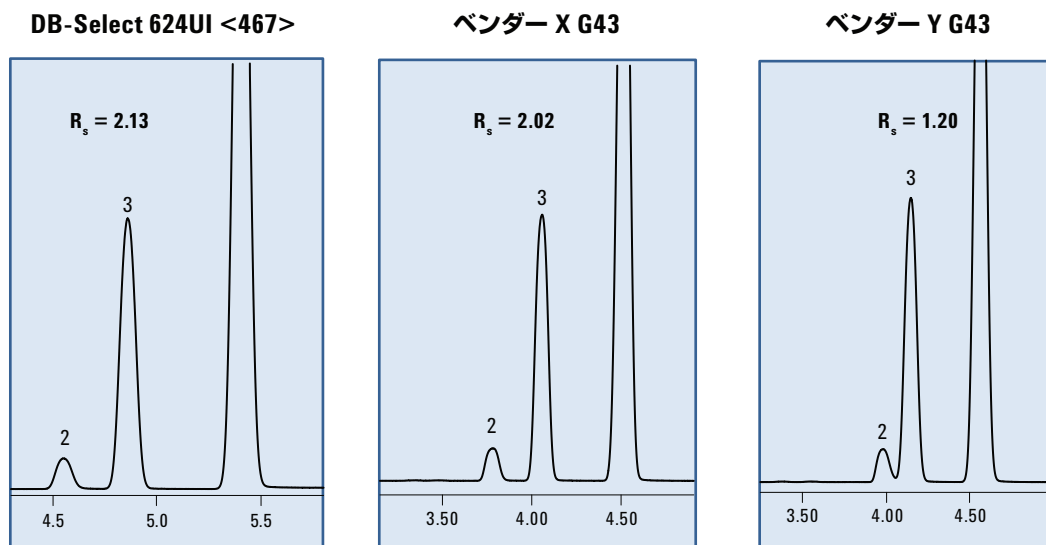


図 5. Agilent J&W DB-Select 624UI USP <467> カラムと他メーカーの G43 カラムにおける、アセトニトリル/ジクロロメタンピーク対の分離の比較

クラス 2B 標準におけるカラム性能

クラス 2B 標準で監視すべき重要な性能パラメータは、ピリジンのピーク形状とテーリングの程度です。図 6 では、DB-Select 624UI <467> カラムを用いた場合のピリジンの USP テーリング値が 1.3 であることが示されています。

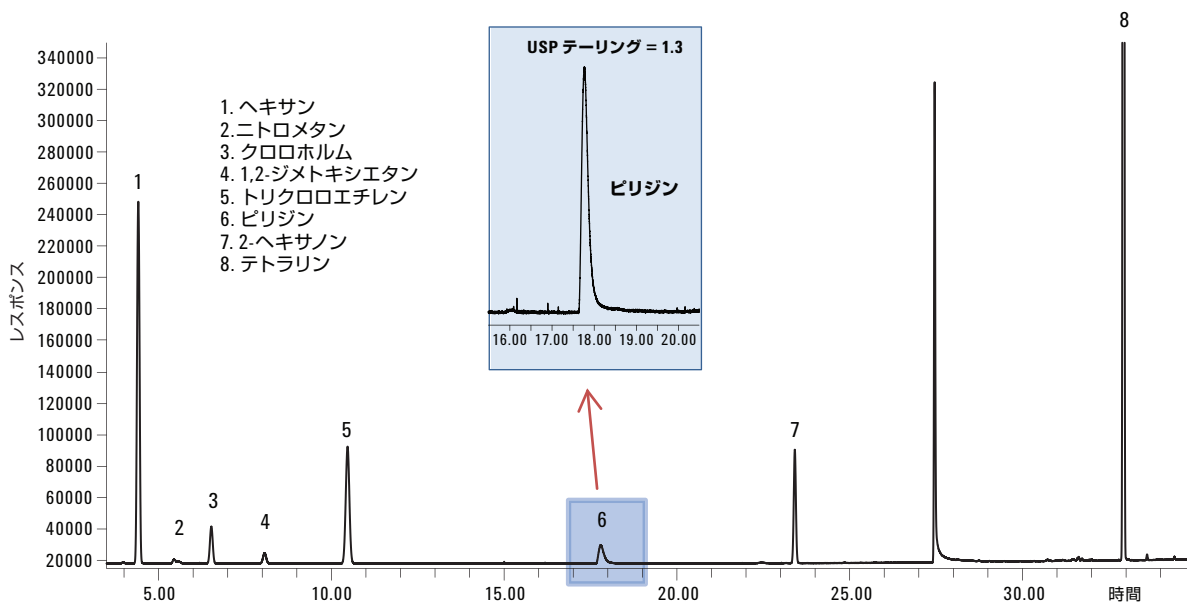


図 6. Agilent J&W DB-Select 624UI USP <467>、30 m x 0.32 mm、1.8 μ m カラム (p/n 123-0364UI) を用いて分析した、USP < 467> 規定限界値のクラス 2B 溶媒標準の FID トレース

図 7 では、Agilent カラムと他の 2 メーカーの G43 カラムで得られたビリジンの USP テーリング値を比較しています。これらのカラムは、同じ寸法のものを用いて、同じ条件下で同じ機器によりテストしました。ベンダー P のカラムでは、200 mg/L でビリジンが検出されていない点に注目してください。

結論

Agilent J&W DB-Select 624UI USP <467> カラムは、USP <467> 規定限界値のクラス 1、クラス 2A、クラス 2B 標準において、優れたクロマトグラフィー性能を備えていることが実証されました。重要なピーク対が分離され、規定限界値の四塩化炭素のシグナル/ノイズ比は 6 を上回りました。ビリジンの USP テーリングファクターは 1.3 で、同じ条件でテストした他の G43 相を大きく上回りました。

この結果は、Agilent J&W DB-Select 624UI USP <467> カラムでは、メソッドに特化して設計およびテストされていない一般的な G43 カラムよりも優れた性能が得られることを示しています。違いを生んでいるのは、不活性試験です。アジレントの革新技術は、常に優れた分離を求める科学者を支援しています。

参考文献

1. United States Pharmacopeia. USP 34-NF29, General Chapter USP <467> Residual Solvents. USP, Pharmacopeia Convention Inc., Rockville MD, USA (12/2011).
2. International Conference on Harmonization. Impurities: Guideline for Residual Solvents, Q3C(R5). ICH of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Current Step 4 Version (2/2011).
3. Roger L. Firor. 「Agilent 7697A ヘッドスペースサンプリャによる再現性に優れた USP <467> 残留溶媒分析」、アジレント・テクノロジー、資料番号 5990-7625JAJP (2011).

詳細情報

本書に記載のデータは、代表的な結果です。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。

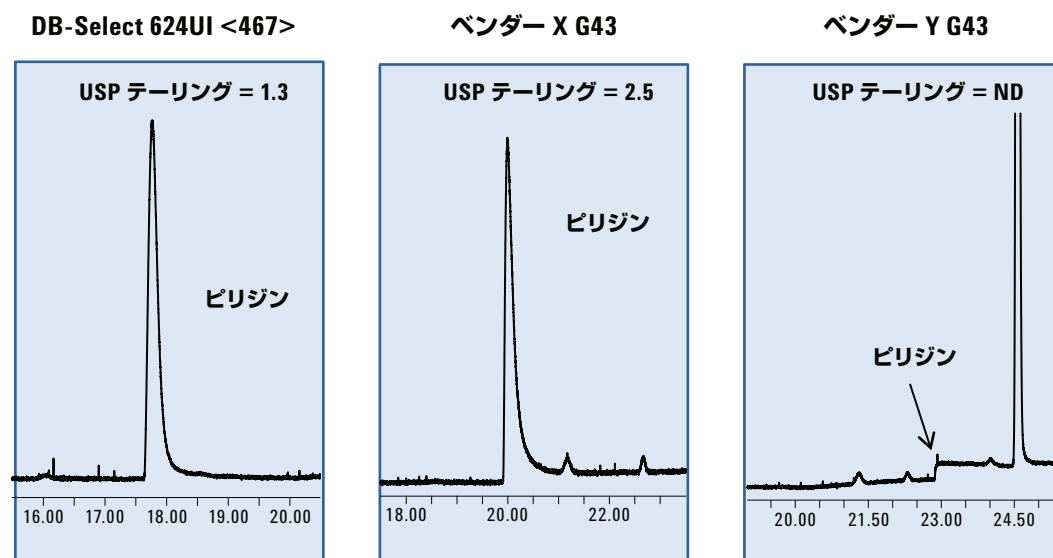


図 7. Agilent J&W DB-Select 624UI USP <467> カラムと他メーカーの G43 カラムにおける 200 mg/L のビリジンピーク形状の比較

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。著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本文書を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc., 2016

Printed in Japan

July 12, 2016

5991-0616JAJP



Agilent Technologies