Agilent 7697A ヘッドスペースサンプラによる再現性に優れた USP <467> 残留溶媒分析

アプリケーションノート

製薬

著者

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

概要

7697A ヘッドスペースサンプラと 7890 GC を組み合わせて、水性溶液に限界濃度で含まれる UPS <467> クラス 1 およびクラス 2 残留溶媒の分析を行いました。全般的に、再現性はクラス 1、クラス 2A、クラス 2B 溶媒のいずれについても、RSD 2.5 %以下でした。スプリット/スプリットレス注入口およびボラタイルインターフェースを含む構成をテストしました。各注入口で 10 mL と 20 mL バイアルを使用しました。メソッド開発と最終的な解析には、マルチテクニック ChemStation に完全に統合されたヘッドスペースコントロールソフトウェアを使用しました。そのほか、FID-FID と FID-MSD を用いたデュアルカラム確認用の構成も紹介します。

Agilent Technologies

はじめに

医薬品に含まれる残留溶媒の分析は、患者の安全性を守るために極めて重要です。品質保証 (QA) ラボでは、こうした分析において、米国薬局方 (USP) メソッド <467> が日常的に用いられています [1]。世界的には、ガスクロマトグラフィと静的ヘッドスペースサンプリングを組み合わせた基本的なメソッドを用いて、品質管理が行われています。このメソッドは、ICH Q3C ガイドラインに厳密に従っています。

医薬品有効成分 (API) や最終製品の製造プロセスから、医薬品に溶媒が残留することがあります。安全性や結晶形態への影響、溶解度、バイオアベイラビリティ、安定性といったさまざまな理由から、残留溶媒の濃度を監視およびコントロールする必要があります。すべての医薬品原料、添加物、製品を監視する必要があります。

この分析では、バイアル平衡時間と GC オーブンプログラムを除き、USP <467> のガイドラインに従います。これは、分析時間とサイクルタイムを大幅に短縮するためです。USP 認証基準に準拠した分析手法は使用可能です。ただし、バリデーションとオリジナルの USP 手順との同等性の確認が必要な場合もあります。各溶媒クラスを個別に分析しました。そのため、短い GC オーブンプログラムを採用することができました。

USP <467> では、クラス 1 およびクラス 2 の残留溶媒について、以下の 3 つの手順が規定されています。

1. 手順 A : 同定と検出限界試験
2. 手順 B : 確認試験 (溶媒が限界を超えた場合)
3. 手順 C : 定量試験

この研究では、手順 A では G43 液相 (この研究では Agilent 624 カラム、VF-624ms または DB-624、部品番号 123-1334) を、手順 B では G16 液相 (HP-INNOWax、部品番号 19091N-113) を使用しました。一般に、これらの一方の液相で分離できない化合物は、もう一方の液相では分離できます。この研究の第一の目的は、再現性を評価することにあるため、RSD の計算には 624 カラムのみを使用しました。デュアル FID (624 および INNOWax カラム) および FID/MSD を用いたその他の構成についても説明します。

これまで、静的ヘッドスペースをベースにしたメソッドは、USP 467 の限界濃度以下の溶媒を分析する際の再現性の低さが問題でした。7697A の持つ最先端のニューマティクス、優れた温度制御、正確なタイミングにより、残留溶媒分析において従来の一般的なサンプラよりも優れた再現性と正確さを実現しました。

実験手法

この研究では、USP <467> 手順 A を用いて、7697A の性能を評価しました。7890 GC については、スプリット/スプリットレス注入口およびボラタイルインターフェース (VI) を備えた構成としました。スプリット/スプリットレス注入口には、内径 2 mm の不活性処理済みスプリットレスライナ (部品番号 5181-8818) を使用しました。内径 4 mm の不活性処理なしスプリットレスライナ (部品番号 210-3003) を使用しても、良い結果が得られます。

クラス 1、クラス 2A、クラス 2B の残留溶媒は、限界濃度になるように純水を用いて作成しました。標準溶液の作成には、有機物を含まない高純度の水が極めて重要です。最終濃度で調製された各クラスの溶液 250 mL のうち 6 mL を、500 mL ガラスボトルに接続した ディスペンサー (Brand 社製 Dispensette) を用いて 10 または 20 mL バイアルに移しました。テフロンコーティングされたセプタム付きのヘッドスペースバイアルのみを使用しました。バイアルに塩は添加しませんでした。アジレントの提供する残留溶媒標準試料の部品番号は以下のとおりです。

クラス 1 : 5190-0490

クラス 2A : 5190-0492

クラス 2B : 5190-0513

7697A は、内径 0.45 mm の不活性フューズドシリカチューブ (Restek Siltek 部品番号 10018) を介してスプリット/スプリットレス注入口に接続しました。その接続部は、セプタムを通じて内径 2 mm の不活性ライナの中にあります。ボラタイルインターフェースを用いる場合は、SilTite フェラルと特別な内部ナット (VI 用に作成) を用いて、フューズドシリカチューブをボラタイルインターフェース本体に接続しました。この研究では、分離能、分離速度、負荷容量、使いやすさのバランスが優れていることから、長さ 30 m 内径 0.32 mm の カラムを使用しました。必要に応じて、ナローボアカラムを使用して分離能を高めることも可能です。

バイアル圧力は、7697A に搭載されたニューマティックコントロールモジュール (PCM) により制御します。キャリアガスは、注入口 EPC からヘッドスペースサンプラへ流れ、7890 注入口に戻ります。ユーザーが設定可能な分析間のパージによって溶媒の凝縮を最小限に抑えられるようにベントフロー流路は設計されています。ヘッドスペースサンプルループの容量は 1.0 mL です。キャリアガスおよびバイアル加圧にはヘリウムを使用しました。PCM により設定したバイアル圧力は標準状態での温度および圧力 (NTP) です。この絶対圧力モードにより、温度や圧力が異なる場所でも、一貫した分析結果が得られます。

システムダイアグラムを図 1 に示します。アプリケーションに固有のパラメータを表 1 に示します。

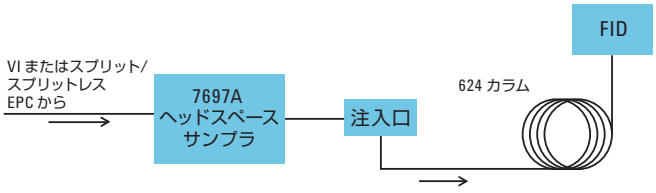


図 1. 再現性評価に用いたシステムダイアグラム

表 1. 残留溶媒分析のシステムパラメータ

注入口	注入口温度	スプリット比
スプリット/スプリットレス	140 °C	5:1
ボラタイルインターフェース	145 °C	5:1
キャリアガスコントロール	注入口 EPC	注入口 EPC
ヘッドスペーストランスファライン	0.45 mm 不活性フューズドシリカ	
カラム 部品番号 CP9104	30 m × 0.32 mm × 1.80 µm VF-624 ms	
オーブンプログラム	40 °C (5 分)～240 °C (2 分)、18 °C/min	
ヘッドスペース温度		
HS オーブン	85 °C	
バルブ/ループ	85 °C	
トランスファライン	100 °C	
バイアルサンプリングパラメータ	**10 mL バイアル**	**20 mL バイアル**
ループ容積	1 mL	1 mL
バイアル平衡時間	40 分	40 分
注入時間	0.5 分	0.5 分
バイアル加圧	15 psia (NTP)	15 psia (NTP)
バイアル最終サンプリング圧力	0 大気圧	10 psia (NTP)
圧力平衡時間	0.10 分	0.10 分
バイアル最終圧力の保持時間	0.05 分	0.05 分
バイアル充填流量	50 mL/min	50 mL/min
バイアル加圧速度	20 psi/min	20 psi/min
抽出後のバイアルのベント	あり	あり
バイアル攪拌設定	2	2

13 ステップから成る 7697A の バイアルサンプリング イベントのシーケンス

1. スタンバイ
2. バイアル予圧
3. 流量センサーオートゼロ
4. 一定流量によるバイアル加圧
5. 一定圧力によるバイアル加圧
6. バイアル圧力の平衡化
7. ループ充填 (バイアルのベント)
8. バイアルベントを用いる注入
9. バイアルベントを用いない注入
10. サンプルバイアルの戻し
11. ニードルからのバイアル移動
12. ニードルのパージおよびラインのベント
13. ニードルのパージ

EPC に制御されたこれらのステップにより、バイアルヘッドスペースのサンプリングに関するあらゆる局面をユーザーがコントロールでき、キャリーオーバーを最小限に抑えながら、一貫した再現性の高いメソッドを実行することができます。EPC モジュールでは、気圧補正も導入されています。各パラメータは、7697A キーボードまたはヘッドスペースコントロールソフトウェアから設定できます。この組み込まれているソフトウェアは標準的な液体オートサ

スタンバイモードにおけるHS サンプリングシステムのニューマティクス

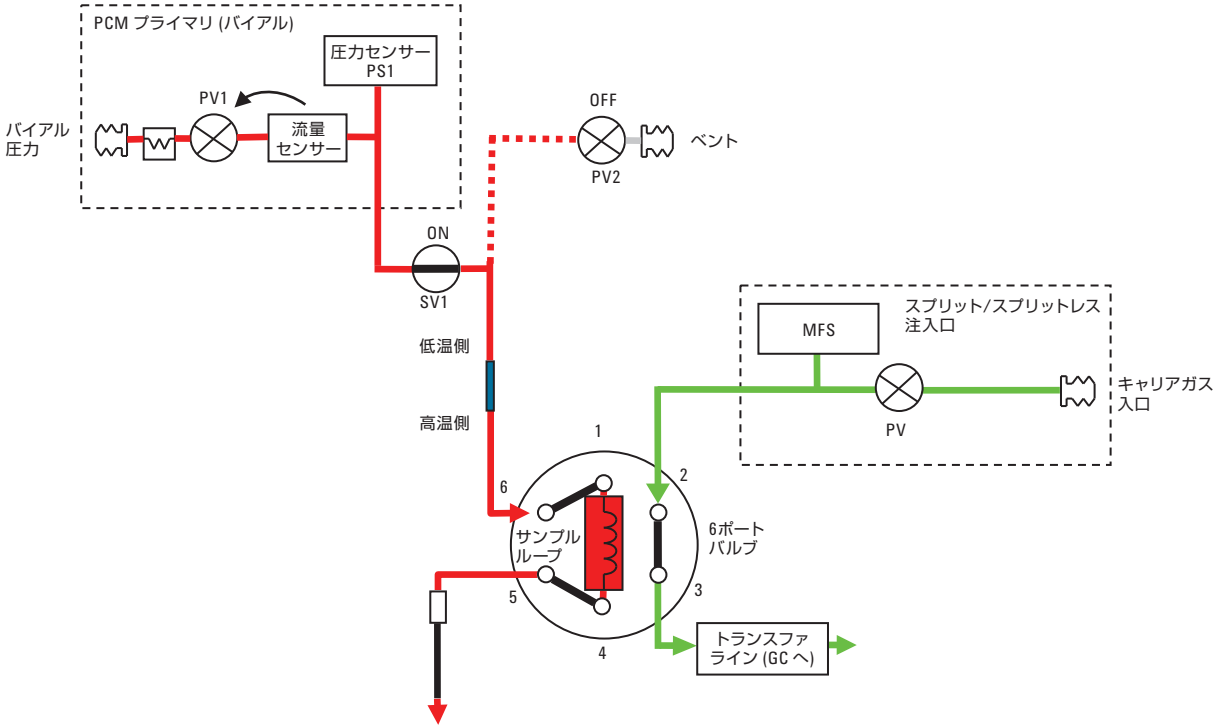


図 2. スタンバイモードでは、PCM EPC は流量コントロールモードになっているため、スタンバイ時のガス使用量を制限できます。サンプルライン、6 ポートバルブ、ソレノイドバルブ (SV1)、ベントトラップ、サンプルニードルがパージされます。キャリアガスは GC 注入口 EPC から流れ続け、6 ポートバルブとトランスファラインを通って GC 注入口へ戻ります。簡易化のためスプリット注入口のニューマティクスは示していません。

ループ充てん (バイアルベント)

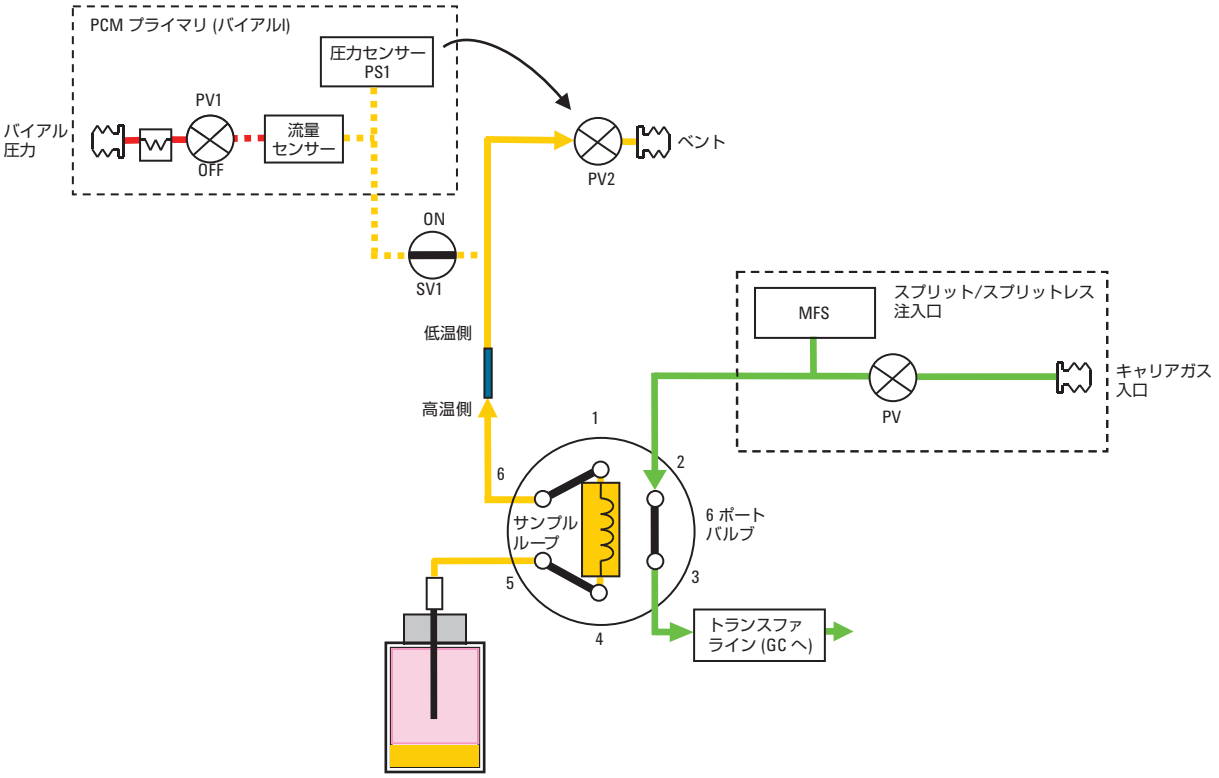


図 3. サンプルは加圧バイアルからサンプルループを通ってベントされます。バイアル用の PCM のチャンネル 2 により制御された PS1 および PV2 から成る背圧制御により、出口圧力が調節されます。これにより、ベントフローを低減し、より正確なサンプル量を維持します。

ンプラとほぼ同様ですが、ヘッドスペースのオートサンプリングの点では独自のスケジューリング方法を採用しています。**スタンバイ**および**注入**ステップのニューマティック構成を図 2 および 3 に示します。

7697A は、ChemStation によって完全にコントロールできます。おもなパラメータ入力画面を図 4 に示します。

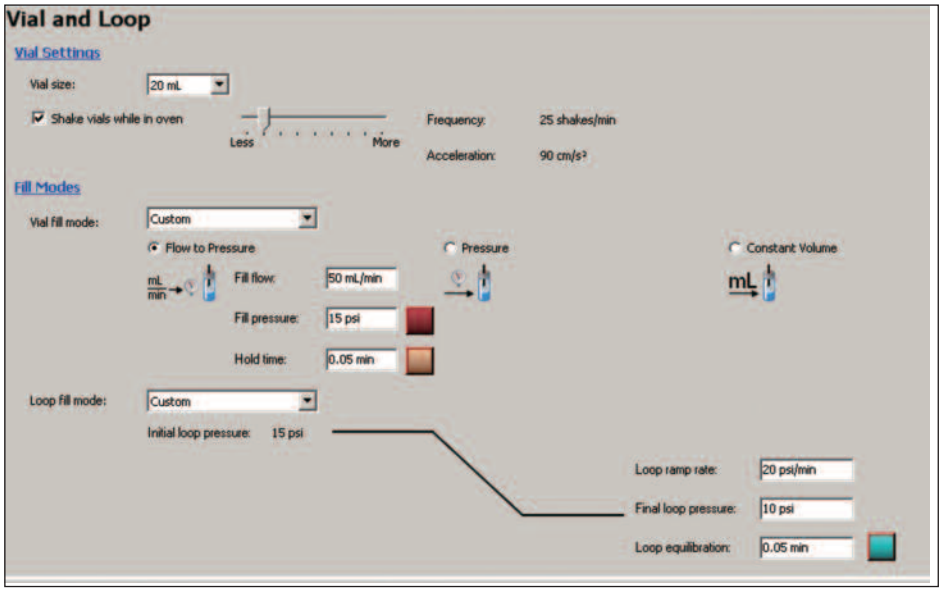


図 4. 20 mL バイアルのパラメータを示します。バイアルは 15 psi (NTP) に加圧され、20 psi/min の速度で 10 psi (NTP) までベントされます。

考察

表 2 に、USP <467> 限界濃度で調製したすべてのクラス 1、2A、2B 溶媒の RSD を記します。すべての構成において、各クラスの分析回数は 20 回です。また、各溶媒クラスの分析に先立ち、2 つのサンプルブランクを分析しました。表に示すように、10 および 20 mL バイアルを用いたスプリット/スプリットレス、10 および 20 mL を用いたボラタイルインターフェースの計 4 つの構成を評価しました。

バイアルのサイズや注入口の種類にかかわらず、ほとんどの分析では RSD 2.5 % を下回りました。この RSD 値が表す再現性は、圧力バランスや従来のバルブループを用いたシステムでは得られません。RSD 値がやや高かった溶媒の多くは、分配係数 *k* が低い (水への親和性が低い無極性溶媒) か、ニトロメタンのように USP 限界濃度での検出器レスポンスが極めて低い溶媒でした。サンプル調製におけるばらつきは、*k* が低い溶媒により大きな影響を与えることがあります。ジメチルスルホキシド (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) や DMSO/水などの混合溶液といったその他の溶媒システムでは、レスポンスが明らかに変化します。水性溶媒を用いて得られた本研究の RSD より良くなることはないかもしれませんが、ほぼ同様の RSD が得られるでしょう。

Agilent 7697A の制御されたベントを使用することで、サンプルループの充填時に、最終バイアル圧力を柔軟に調節することができます。メソッド開発の基本的な原則に従えば、最良の再現性を得るためには、最終バイアル圧力を 2.0 psi (NTP) から 10.0 psi (NTP) の間に設定する必要があります。こうしたコントロールにより、より良質な分析結果が得られ、分析対象の *k* (分配係数) 値によっては、感度も高まります。7697A では、圧力で制限された流量、流量 200 mL/min での圧力コントロール、固定容積を用いた 3 つのバイアル加圧モードが可能です。本研究のシステムでは、すべての分析で圧力制限された流量を用いてバイアルを加圧しました。

3 つの溶媒クラスの代表的なクロマトグラムを図 5 に示します。Agilent VF-624 ms カラムにおいて、クラス 1 溶媒のベンゼン、1, 2 ジクロロエタンがベースラインで分離されている点に注目してください。

表 2. 限界濃度の残留溶媒標準溶液の RSD。標準溶液は水性溶媒で調製。n = 20

化合物	スプリット注入		VI 注入	
	10 mL	20 mL	10 mL	20 mL
クラス 1				
1,1-ジクロロエテン	2.9	2.0	2.0	2.6
1,1,1-トリクロロエタン	2.7	2.2	1.9	3.9
四塩化炭素	3.8	4.4	3.1	3.4
ベンゼン	3.9	2.3	1.5	3.1
1,2-ジクロロエタン	1.6	1.3	1.1	1.7
クラス 2A				
メタノール	1.0	0.6	1.3	0.4
アセトニトリル	1.0	0.5	1.3	0.6
ジクロロメタン	1.2	1.9	1.5	2.3
trans-2,3-ジクロロエテン	2.4	2.5	2.9	2.8
cis-1,2-ジクロロエテン	1.5	2.1	1.8	2.8
テトラヒドロフラン	0.8	0.6	1.4	0.7
シクロヘキサン	3.5	2.9	4.2	2.9
メチルシクロヘキサン	4.1	3.9	4.3	3.2
1,4-ジオキサン	1.4	0.6	1.6	0.5
トルエン	1.5	2.0	2.1	2.8
クロロベンゼン	1.4	2.1	1.7	3.0
エチルベンゼン	1.6	2.2	2.1	2.7
m-キシレン、*p*-キシレン	1.6	2.2	2.0	2.9
o-キシレン	1.4	2.2	1.8	3.1
クラス 2B				
ヘキサン	3.9	1.3	3.6	2.7
ニトロメタン	5.4	4.8	4.4	3.3
クロロホルム	4.0	2.5	1.7	1.7
1,2-ジメトキシエタン	1.7	1.6	4.2	4.5
トリクロロエテン	5.9	2.5	2.1	1.6
ピリジン	1.7	0.8	1.5	0.9
2-ヘキサノン	1.5	0.7	0.9	0.7
テトラリン	2.7	2.7	1.4	1.7

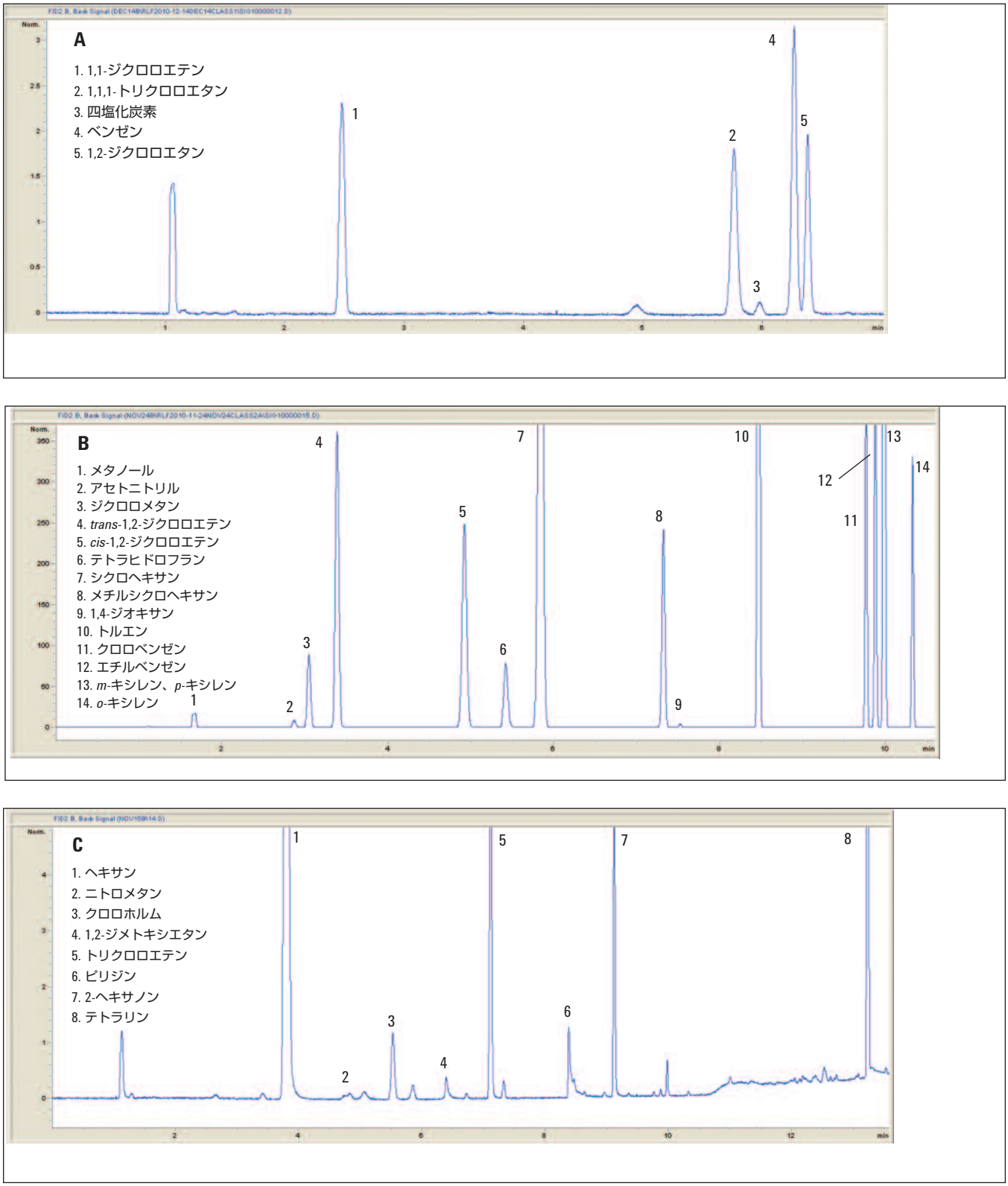


図 5. USP 467 限界濃度のクラス 1、クラス 2A、クラス 2B 溶媒のクロマトグラムを図 A、B、C にそれぞれ示します。いずれもスプリット/スプリットレス注入および 20 mL バイアルを使用しました。

その他の構成

図 5 に示した構成を用いれば、Agilent 624 (VF-624ms) および INNOWax カラムによる同時デュアルチャンネル分析が可能です。ここでは、不活性リテンションギャップにより、注入口とパージなしスプリッタを接続しています。30 M x 0.32 mm 624 カラムと INNOWax カラムにスプリット比 1:1 で分配されます。この構成では、UPS <467> の手順 A と手順 B を 1 度に同時に実行できます。また、Siltite/内部ナットで、CFT スプリッタの一つの接続口をプラグするだけで、簡単にシングルカラムシステムに変更することができます。この変更方法を図 6 の囲みの中で示しています。

クラス 1、クラス 2A、クラス 2B 溶媒のクロマトグラム例を図 7、8、9 に示しています。条件は次のとおりです。7:1 スプリット比のボラタイルインターフェース、40 °C で 14 psig。オーブン : 40 °C (5 分)～240 °C (2 分)、18 °C/min。限界濃度におけるすべてのクラスの分析結果を図 10 にまとめています。

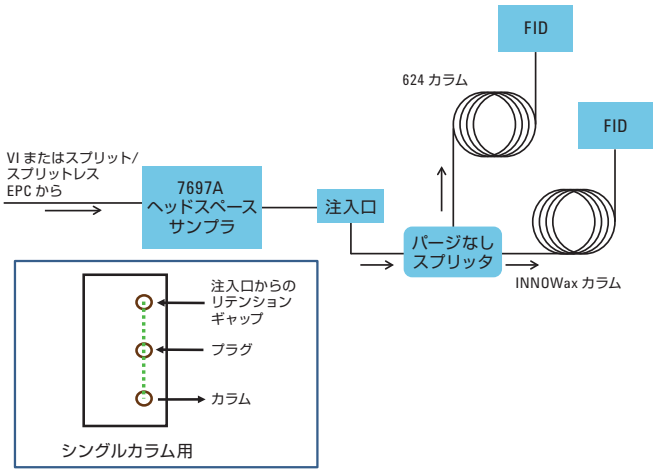


図 6. デュアルチャンネル確認用の構成。囲み内では、スプリッタを用いたシングルカラムシステムを示しています。

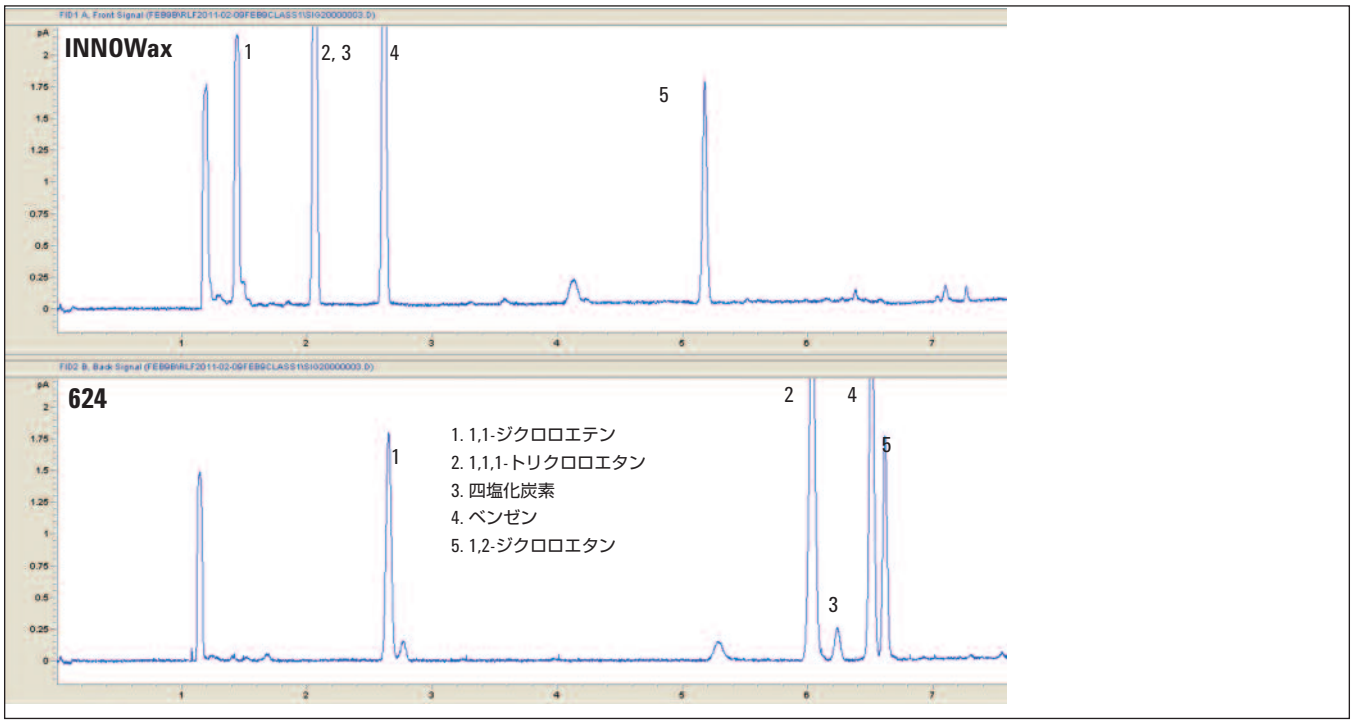


図 7. USP 467 限界濃度のクラス 1 溶媒のデュアルチャンネル分析

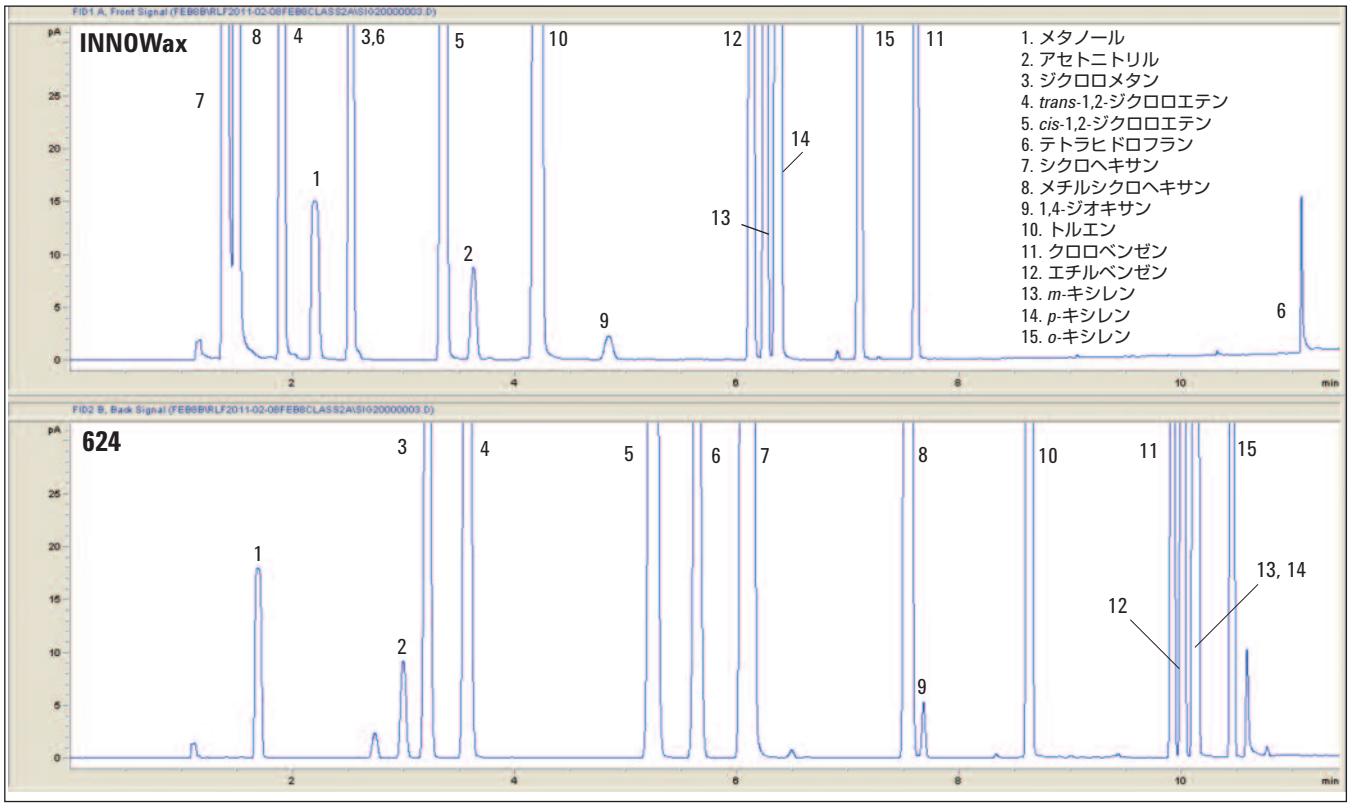


図 8. 限界濃度のクラス 2A 溶媒のデュアルチャンネル分析

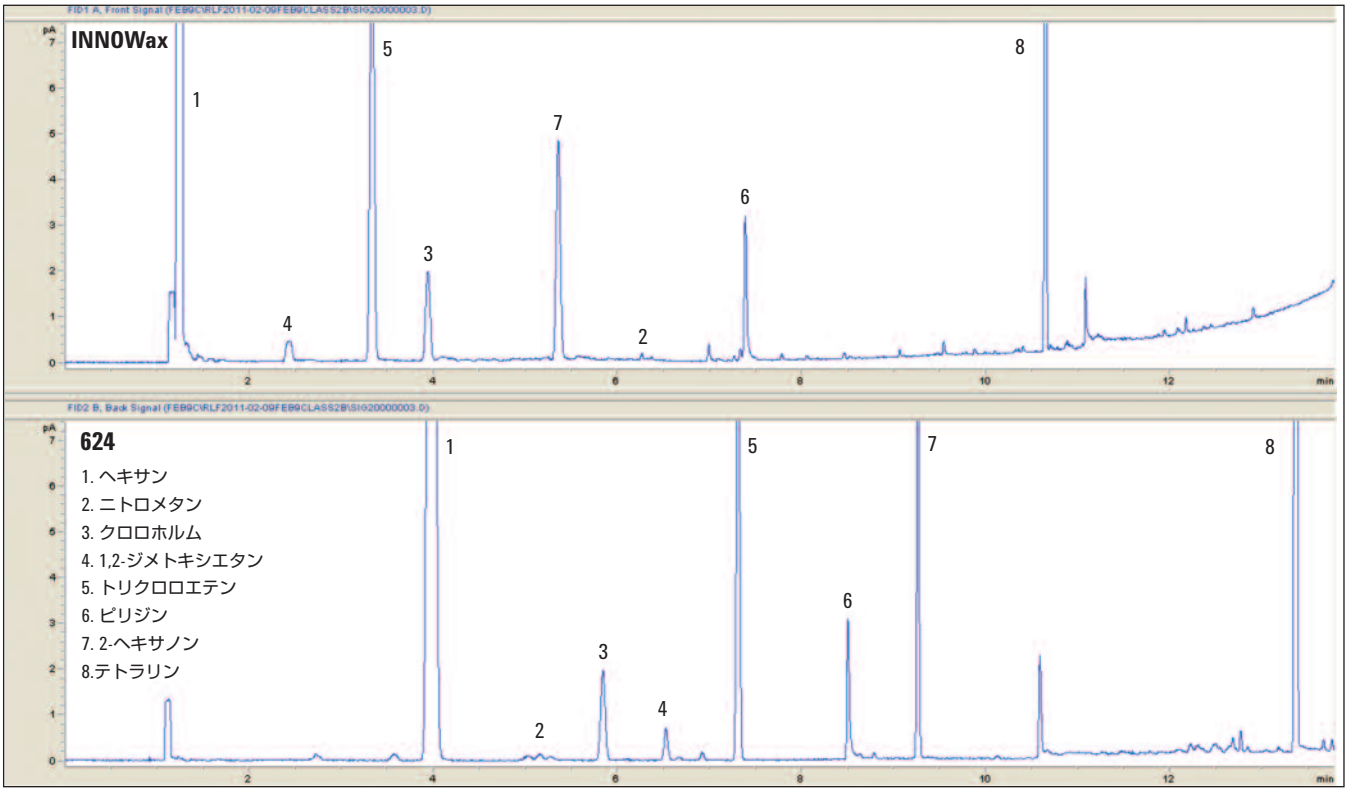


図 9. 限界濃度のクラス 2B 溶媒のデュアルチャンネル分析

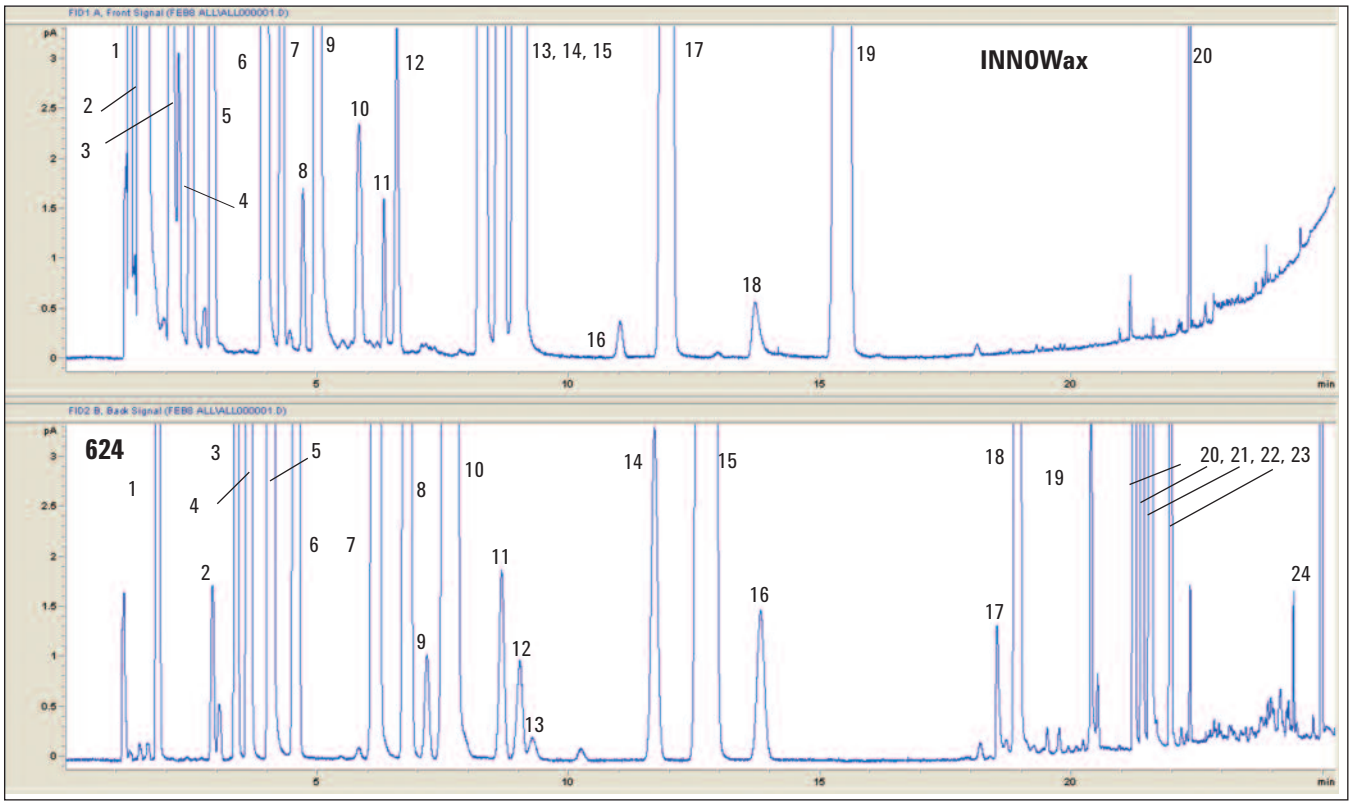


図 10. すべてのクラスのデュアルチャンネル分析。オーブン : 35 °C (17 分)～240 °C (5 分) @ 20 °C/min。ボラタイルインターフェース、5:1 スプリット。

Agilent 624 カラムのピーク番号 :

1. メタノール、2. 1,1-ジクロロエテン、3. アセトニトリル、4. 塩化メチレン、5. *trans*-1,2-ジクロロエテン、6. ヘキサン、7. *cis*-1,2-ジクロロエテン、ニトロメタン、8. テトラヒドロフラン、9. クロロホルム、10. シクロヘキサン、四塩化炭素、1,1,1-トリクロロエタン、11. ベンゼン、12. 1,2-ジクロロエタン、13. 1,2-ジメトキシエタン、14. トリクロロエテン、15. メチルシクロヘキサン、16. 1,4-ジオキサン、17. ピリジン、18. トルエン、19. 2-ヘキサノン、20. クロロベンゼン、21. エチルベンゼン、22. *m, p*-キシレン、23. *o*-キシレン、24. テトラリン

INNOWax カラムのピーク番号 :

1. ヘキサン、2. シクロヘキサン、メチルシクロヘキサン、1,1-ジクロロエテン、3. *trans*-1,2-ジクロロエテン、テトラヒドロフラン、1,1,1-トリクロロエタン、四塩化炭素、4. メタノール、1,2-ジメトキシエタン、5. 塩化メチレン、ベンゼン、6. *cis*-1,2-ジクロロエテン、トリクロロエテン、7. アセトニトリル、8. クロロホルム、9. トルエン、10. 1,4-ジオキサン、11. 1,2-ジクロロエタン、12. 2-ヘキサノン、13. エチルベンゼン、14. *p*-キシレン、15. *m*-キシレン、16. ニトロメタン (このスケールでは示さず)、17. *o*-キシレン、18. ピリジン、19. クロロベンゼン、20. テトラリン

すべての USP クラス 1 およびクラス 2 溶媒をまとめて分析した場合、624 カラムと INNOWax カラムのいずれでも、分離できない化合物が存在しました。一方の液相で分離できない化合物でも、多くの場合、他方の液相では分離できるので、デュアルカラム構成を用いれば、より明確な同定が可能になります。また、実際の場面における分析では、通常、監視する溶媒はこれよりもずっと少ないため、不明確さは低減します。

新薬の開発や品質管理では、FID および質量選択検出器を用いたデュアルチャンネル構成が、残留溶媒分析の効果的な手法となります。Agilent 5975C MSD を用いた構成を図 11 に示します。このシステムは、USP <467> ガイドラインに準拠する必要のない一般的なメソッドの開発に特に適しています。現在、医薬品製造では 60 以上の溶媒が使われているため、MSD 分析を行えば、より正確に同定することができます。このシステムは、未知のピークや溶媒が存在する場合に、溶媒の確認や定量を行うための最良の手法となります。ただし、二つの検出器によるキャリアガスのスプリットとメイクアップガスの存在により、感度が若干低下します (表 3)。

この構成では、プログラムしたオーブンの最高温度において、Aux EPC の メイクアップガスのチャンネルが「not ready」状態となるのを防ぐために、リストリクタのサイズを慎重に選択する必要があります。こうした状態は、リストリクションが強すぎて Aux チャンネルで逆流が起きると生じます。メイクアップガスは、分析全体を通じて順方向に保つ必要があります。表 3 では、いくつかの温度における流量を計算しています。適切なリストリクタ寸法の計算には、フローカリキュレータ [2] を使用して下さい。

表 3. 図 10 に示す構成における流量の (mL/min) 計算値

オーブン温度	カラム流量	MSD** 流量	FID 流量	出口でのトータル流量	メイクアップ流量
40 °C	3.5	3.8	4.3	8.1	4.6
150 °C	3.5	2.5	2.6	5.1	1.6
240 °C	3.5	1.9	1.9	3.8	0.3 *

* プログラムしたオーブンの最高温度でメイクアップガスが逆方向になると、Aux EPC が「not ready」状態になります。これを避ける必要があります。必要に応じてリストリクタを確認し、調節してください。

** 220 °C (MSD トランスファライン)、17.1 cm のリストリクタで流量を計算しています。

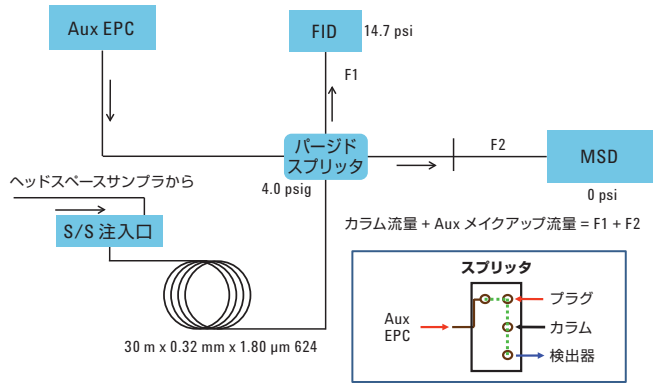


図 11. デュアルチャンネル FID-MSD の構成。
リストリクタ (FID へのスプリッタ) = 80 cm x 0.20 mm、
リストリクタ (MSD へのスプリッタ) = 137 cm x 0.18 mm。
カラム DB-624、30 m x 0.32 mm x 1.80 µm

一部の溶媒の場合、FID では MSD よりもレスポンスが小さくなります。たとえば、1,4 ジオキサンや 2-ヘキサノンといった溶媒は、MSD レスポンスの方が大きくなります。こうしたシグナルノイズ比が非常に小さい溶媒や分離できない溶媒については、抽出イオンまたは SIM を使用すれば、正確に同定できる可能性が大幅に高くなります。

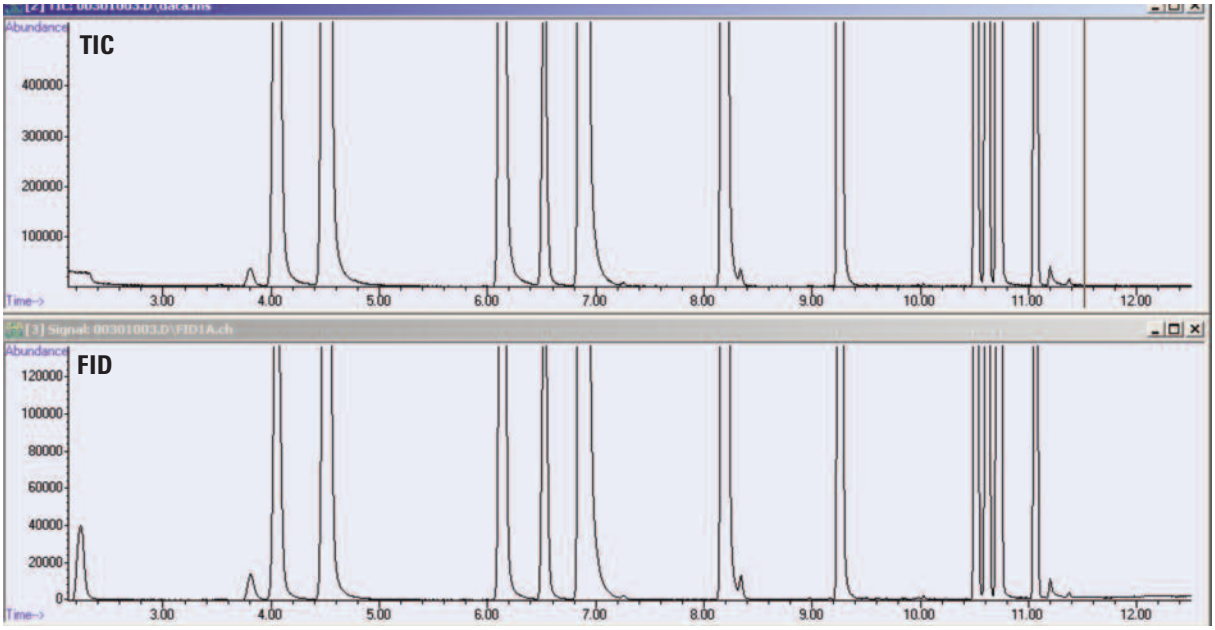


図 12. FID-MSD で分析した限界濃度のクラス 2A 溶媒。20 mL バイアルを使用

結論

Agilent 7697A ヘッドスペースサンプラを使えば、残留溶媒分析において、優れた再現性が得られます。不活性のサンプル流路、設定ポイント ± 0.1 °C よりも優れた安定性を備えた温度領域、絶対圧力を用いた柔軟な EPC 制御バイアルサンプリングにより、優れたシステム性能が実現しています。

すべての構成で、キャリーオーバーはほとんど生じませんでした。ユーザーによるプログラムが可能な流速とタイムイベントにより、ニードルおよびベントフロー流路のパージ機能を制御し、分析間にシステムを効果的にクリーニングすることができます。

この研究で紹介したメソッドと構成は、残留溶媒分析の戦略における多くの可能性を示しています。ラボや QA 担当部署では、USP や ICH のガイドラインに従って、システム安定性試験を実施し、提案されたメソッドのバリデーションを行う必要があります。FID-MSD システムは製剤に用いられた溶媒が不明な場合に特に効果的です。また、この構成では、SIM の使用により、分離できない溶媒の問題も解消されます。

参考文献

1. USP 32-NF 27, General Chapter USP <467> Organic volatile impurities, United States Pharmacopeia. Pharmacopoeia Convention Inc., Rockville, MD, 8/2009
2. Download “GC Pressure Flow Calculator Software Revision 2.05,“ from www.agilent.com/chem/flowcalculator
3. Albert E Gudat and Roger L. Firor, “Improved Retention Time, Area Repeatability, and Sensitivity for Analysis of Residual Solvents,” Agilent Technologies publication 5989-6079EN.

詳細情報

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., 2011
Printed in Japan
March 15, 2011
5990-7625JAJP

Agilent Technologies