[APPLICATION NOTE]

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Quality by Design（QbD）ベースの分析法開発による ziprasidone 過酸化分解サンプル中の不純物検出

Mia Summers and Kenneth J. Fountain
Waters Corporation, 34 Maple St., Milford, MA, USA

利点

- カラムマネージャと溶媒選択バルブを備えたACQUITY UPLC H-Class と Empower ソフトウェアを併せて使用した迅速・効率的な分離とデータ管理
- Quality by Design（QbD）アプローチを用いて頑健性を組み込んだプロセスにより、将来に渡り再バリデーションすることなく継続的な改善を行いやすい分析法を開発
- ACQUITY UPLC カラムカリキュレータと分析法移管キットによりUPLC を導入していないラボにも容易に分析法を移管可能
- 分析法開発に統計的実験計画を用いることで、幅広い実験スペースをカバーする効率的なサンプルセットを作成し有意に時間を低減

ソリューション

ACQUITY UPLC H-Class システム
ACQUITY UPLC CSH C_{18} カラム
XSelect CSH C_{18} カラム
Empower CDS
Fusion AE Method Development ソフトウェア（S-Matrix）

キーワード

分析法開発、UPLC、分析法移管、Quality by Design、ziprasidone、強制分解、CSH、ACQUITY UPLC カラムカリキュレータ

はじめに

分析法開発は、医薬品開発のパイプラインを通じて何度も繰り返される時間のかかるプロセスです。分析法の開発には、最適な分析法が得られるまで変数を1つずつ順番に変更していく一時一事法がよく用いられます。一時一事法では適切な分析法が開発できますが、分析法の可能性と頑健性については限られた理解しか得られません。むしろ、複数の固定相、pH範囲、有機溶媒を評価する系統的スクリーニングアプローチの方が、分析法開発についてより詳細な情報が得られるアプローチです。分析法開発に対してのQuality by Design (QbD) アプローチでは、頑健な分析法の“デザインスペース”を開発するために統計的な実験計画法 (DoE) を用いています。デザインスペースは、その範囲内で分析法のパラメータを変化させても分析結果には有意に影響しない実験領域を規定しています。この分析法に頑健性を組み込んだアプローチが分析法として開発されています[1]。

分析法開発において全体としての分析法の可能性および制限をよりよく理解することで、より下流での分析法バリデーション、移管、ルーチン使用における成功の可能性が高くなります。ソフトウェアを活用した分析法開発により大きく時間を節約し、QbDを用いることで規制当局に提出するための有意に頑健で質の高いデータを創出することができます。

本アプリケーションノートでは、抗精神病薬ziprasidoneの強制分解サンプルについての分析法開発にQbDアプローチを適用し、それに続きHPLCに分析法移管を行ったアプリケーションをご紹介します。短い分析時間で効率的な分離を得ると同時に幅広い条件から自動でスクリーニングを行うため、分析法開発はカラムマネージャと溶媒選択バルブを備えたACQUITY UPLC H-Classシステムを用いて行いました。Fusion AE Method DevelopmentソフトウェアをEmpowerソフトウェアと併せて用いることで、分析法開発に向けたより包括的なQbDアプローチが促進されます。

実験

ACQUITY UPLC H-Class 条件

移動相：

A：アセトニトリル

B：メタノール

C：0.1%ギ酸水溶液（pH2.5）

D：0.1%濃アンモニア水溶液（pH10.5）

カラム（全て2.1x50mm、1.7µm）

1. ACQUITY UPLC CSH C_{18}
2. ACQUITY UPLC CSH Fluoro-Phenyl
3. ACQUITY UPLC BEH Shield RP18
4. ACQUITY UPLC HSS C_{18} SB
5. ACQUITY UPLC HSS T3
6. ACQUITY UPLC HSS Cyano

ニードル洗浄：	水:メタノール = 10:90
パージ溶媒：	水 :メタノール = 90:10
シール洗浄溶媒：	水 : メタノール= 90:10
検出：	UV@254nm

スクリーニング（フェーズ 1）

流速：	0.6 mL/min
注入量：	2 µL
カラム温度：	30℃
グラジエント時間：	5分
変動要因：	固定相、移動相、グラジエント終了有機溶媒%、移動相 pH2.5-10.5

最適化（フェーズ 2）

カラム：	ACQUITY UPLC CSH C_{18}, 2.1×50mm, 1.7µm
移動相：	A：アセトニトリル D1：0.1 % ギ酸水溶液（pH2.5）
グラジエント終了点：	アセトニトリル 87.5%
変動要因：	グラジエント時間、カラム温度、注入量、流速
データマネージメント：	Empower CDS Fusion AE Method Development ソフトウェア（S-Matrix）

サンプル調製

ziprasidone過酸化分解サンプル：

溶解溶媒（水：メタノール=50：50）でジプラシドン0.4 mg/mL に調製したサンプルに等量の 3% 過酸化水素溶液を加え、80℃で30分間加熱。水にて最終濃度0.1 mg/mL に希釈。

結果と考察

フェーズ1：スクリーニング

ACQUITY UPLC H-Classシステム、Empower および Fusion AE Method Development ソフトウェアを用いて分析法開発を行いました。H-Classは6-ポジションカラムマネージャと溶媒選択バルブにより1つのシステムで十分な分析法開発の機能を備えています。イニシャルスクリーニングでは、選択性を最大限にするために、CSH、BEH、HSSをパーティクル基材とするカラムケミストリを用いました。移動相 pH 2.5-10.5で、有機溶媒（アセトニトリルまたはメタノール）はグラジエント終了有機溶媒濃度を50-100%の範囲で変化させました。

これらパラメータを用いFusion AEでは、ランダム化および繰り返し注入も含まれた実験計画が作成されます。実験計画は実験のセットアップにおいて入力された定数および変動要因により規定されたナレッジスペースを全て含むように作成されます。必要最小限の試験で最大限の情報を得られるように、ソフトウェアにより一部

実施統計計画が選択されます。実験計画はEmpowerソフトウェアに送信され、全ての装置メソッド、メソッドセット、サンプルセットは自動的にEmpowerのサンプル手順に組み込まれ、すぐに分析を開始できます。

最初の積分および処理の後、ziprasidoneのスクリーニング分析の結果はFusion AEにインポートされ、続いて行う最適化のための初期分析法作成用に処理されます。ziprasidone過酸化分解サンプルは、CSH C_{18}カラムを用いて、移動相はpH2.5、水/アセトニトリルでグラジエント終了濃度が87.5%の時に最適な結果が得られました。開発した分析法は質量分析計による検出にも適合するため、ziprasidone強制分解物の迅速な検出のためにLCMSに直接導入されました（図1）。

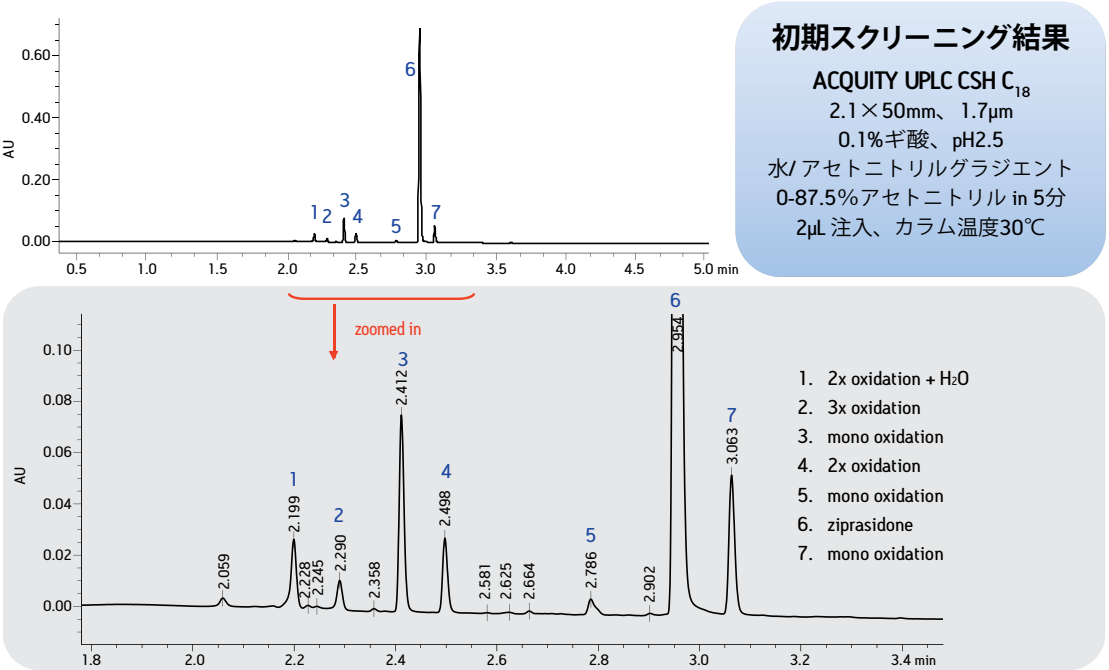

図1　ziprasidone 過酸化分解物のスクリーニング実験により得られたイニシャル分析法

フェーズ2：分析法最適化

初期の分析法は、カラム温度、注入量、グラジエント勾配（グラジエント時間により修正）や流速などの第二の変動要因を変更する第二の実験でさらに最適化を行いました。新規実験計画は Fusion AE で作成し、メソッドおよびサンプルセットは自動的にEmpowerに組み込まれます。

Fusion AEでデータ処理を行った後、ユーザーの規定した合否基準に最も合致する、最終の最適化した分析法が作成されました。ziprasidone 過酸化分解物の分離（図2）の場合、ピーク2のテーリング改善とともにベースラインでの微量不純物のより良好な分離が見られ、2.075分に新たな不純物の分離が観察されました。

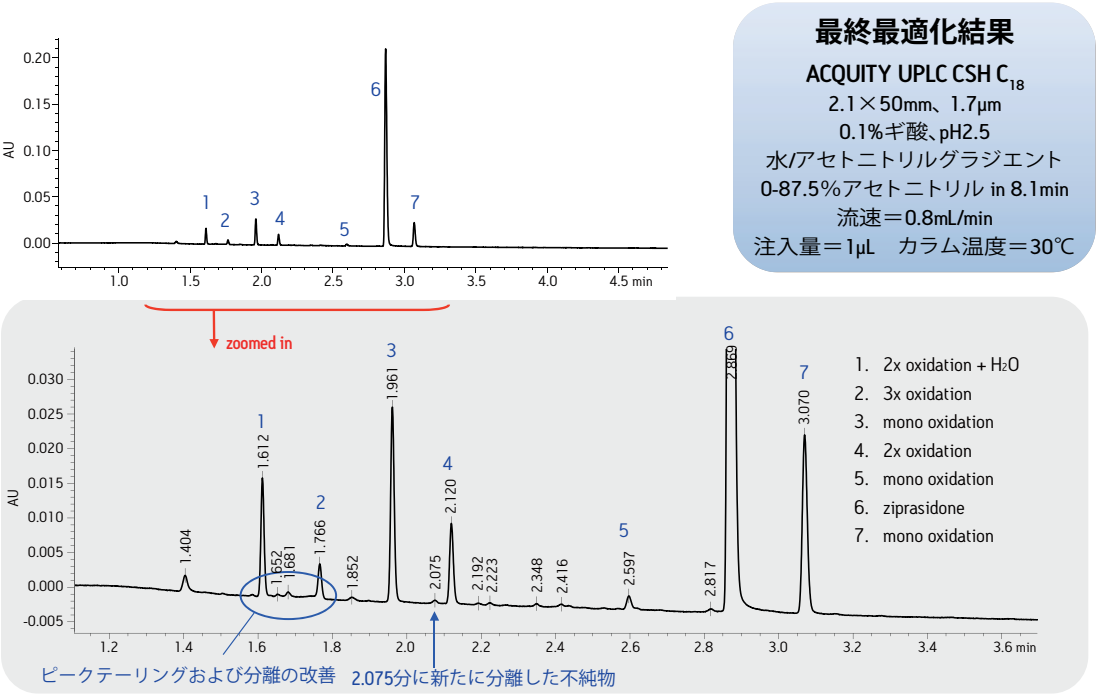

図 2　ピークテーリングおよび分離を改善した ziprasidone 過酸化分解サンプルの最終最適化分析法

Fusion AEの多次元プロットにより各要因の分離への影響を容易に視覚化することができます（図3）。2D等高線図の白い領域は、結果が指定された基準に入る分析法の最も頑健な領域、デザインスペースを示しています。各軸で要因を変更することで、より詳細にデザインスペースが検証され、分析法の頑健性が十分に理解されます。

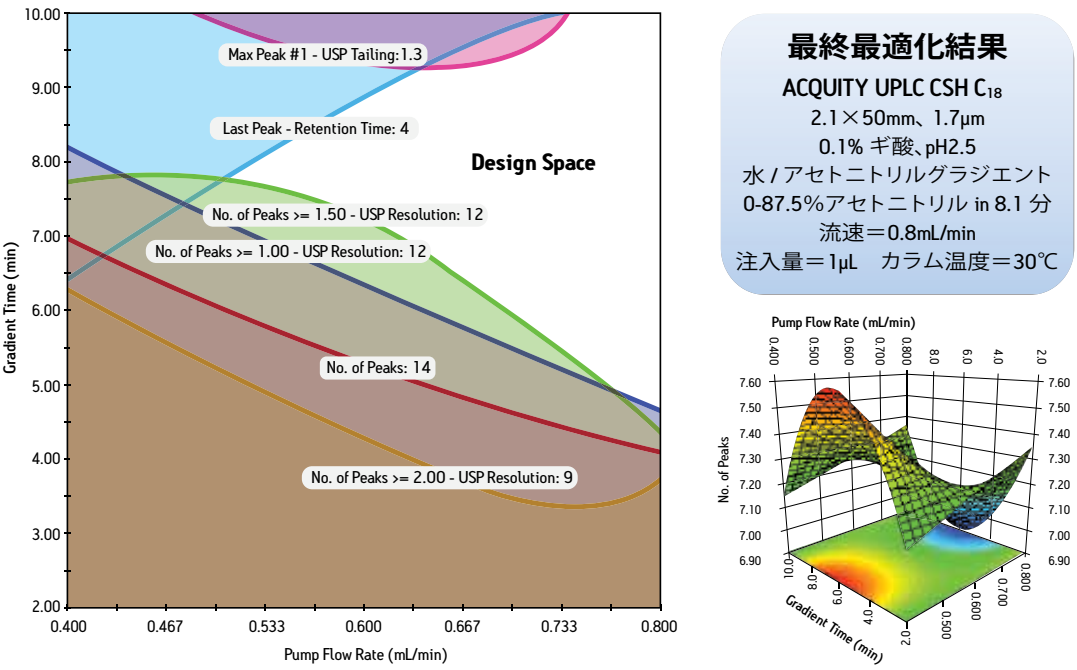

図 3　グラジエント時間およびポンプ流速それぞれの分析法の成功に対する影響を示すデザインスペース領域。右に示すようにデータは 3D のプロットで示すことも可能。

分析法移管

分析法開発ラボからUPLCを持たない品質管理 (QC) ラボへの分析法移管性を示すために、Fusion AEソフトウェアを用いて開発したUPLC分析法をHPLCに移管しました、分析法移管はACQUITY UPLCカラムカリキュレーターおよび分析法移管キットを用いて、粒子径に応じてスケーリングを行いました。分析法はACQUITY UPLC CSH C_{18} 2.1×50mm 1.7μmカラムから対応するXSelect CSH C_{18} 4.6×150mm 5μm HPLCカラムに移管しました。UPLCおよびHPLCの分離比較から、UPLCで開発した分析法をHPLC条件にスケーリングしてもピークのプロファイルと分離度が維持されていることが示されました。

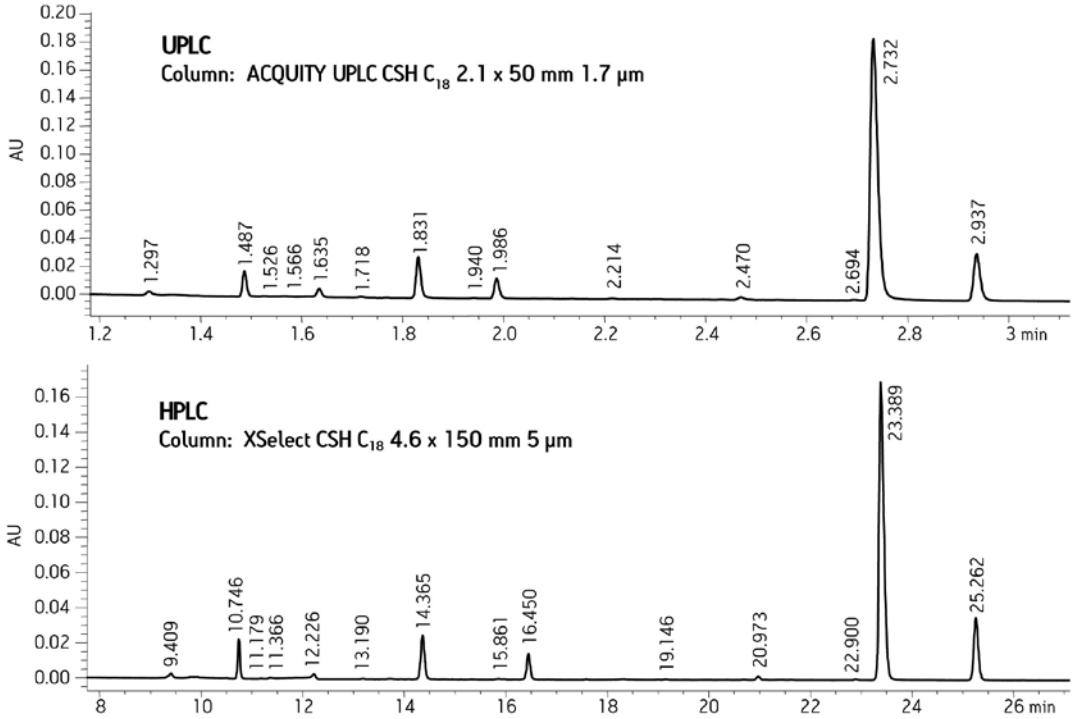

図4　ziprasidone 過酸化分解サンプルの UPLC から HPLC への分析法移管

結論

- ziprasidone 過酸化分解サンプルの頑健な分析法をACQUITY UPLC H-Class システムと Empower および Fusion AE Method Development ソフトウェアを組み合わせて Quality by Design アプローチを用いて2日間で開発しました。
- QbD分析法開発のソフトウェアと ACQUITY UPLC H-Class システムによる自動化とを組み合わせることで、カラム温度、流速、注入量、グラジエント勾配など第二の変動要因の影響を評価するとともに、幅広いカラムケミストリー、移動相、pH範囲での迅速スクリーニングおよび最適化が行えます。
- UPLCの迅速な分離とFusion AE Method Developmentソフトウェアの効率的な実験計画を組み合わせることで、包括的な分析法開発の実験が迅速に行えます。
- ziprasidone 過酸化分解サンプルのUPLC分析法は、分析法開発キットと ACQUITY UPLC カラムカリキュレーターを用いて1ステップでHPLCに移管することができ、UPLCで開発した分析法がUPLCをもっていないラボにも容易に移管できることが示されました。

REFERENCES:

1. Alden PG, Potts W, Yurach D. A QbD with Design-of-Experiments Approach to the Development of a Chromatographic Method for the Separation of Impurities in Vancomycin. Waters Application Note 70003719EN. 2010 Sept.
2. Jones MD, Alden P, Fountain KJ, Aubin A. Implementation of Methods Translation between Liquid Chromatography Instrumentation. Waters Application Note 720003721EN. 2010 Sept.

適用規格：JISQ9001：2008（ISO9001：2008）
登録番号：JMAQA-331 登録日：1999年05月31日
審査登録範囲：理科学機器（液体クロマトグラフ・質量分析装置・データ管理システム等）の輸入・販売から保守業務までのトータルサポート及び保守プランの設計・開発

Waters および ACQUITY UPLC は Waters Corporation の登録商標です。Empower、CSH、XSelect および The Science of What's Possible は Waters Corporation の商標です。その他すべての登録商標はそれぞれの所有者に帰属します。

このISO9001認証登録ロゴは、Waters Corporationのものです。

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

日本ウォーターズ株式会社 www.waters.co.jp
東京本社 〒140-0001 東京都品川区北品川1-3-12第5小池ビル TEL 03-3471-7191 FAX 03-3471-7118
大阪支社 〒532-0011 大阪市淀川区西中島5-14-10 サムティ新大阪フロントビル11F TEL 06-6304-8888 FAX 06-6300-1734
ショールーム 東京 大阪
テクニカルセンター 東京 大阪 名古屋 福岡

©2012 Waters Corporation. Produced in Japan. 2012 年 4 月 720004072 JA PDF