[APPLICATION NOTE]

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Empower 分析法バリデーションマネージャ（MVM）を用いたジプラシドンおよびその分解物の分析法バリデーション

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

利点

- ミスが起こりやすい複数のスプレッドシートや紙記録を用いずに、バリデーション試験のモニタリングが容易で、確実なトレーサビリティの一元管理が可能
- 効率的なサンプルセット（分析手順）により、サンプル調製と測定時間を短縮
- 頑健性において複数要因を一度に分析できるため、一時一事法（OFAT）よりも大幅に時間短縮が可能
- 固定相のバッチが異なる複数のカラムを用いて試験を行い、長期間のメソッド堅牢性を確保

ソリューション

ACQUITY UPLC H-Class システム
ACQUITY UPLC CSH C_{18}
XSelect CSH C_{18} カラム
メソッドバリデーションキット（MVKs）
Empower 分析法バリデーションマネージャ（MVM）ソフトウェア

キーワード

分析法バリデーション、UPLC、バッチ、併行精度、ジプラシドン、分解、CSH

はじめに

分析法バリデーションは規制環境下での分析法開発に必要不可欠です。バリデーションプロセスは、バリデーションテストパラメータおよびそれぞれの要件と合否基準を定義するところから、サンプル調製、分析とデーター量が多く時間もかかります。データー処理や結果の追跡のためのスプレッドシートおよび紙記録はミスが起こりやすく、Empower 分析法バリデーションマネージャ（MVM）[1] のようなバリデーションソフトウェアパッケージを用いることで改善できます。

このアプリケーションノートでは、ジプラシドンと強制劣化により生じる不純物の分析法バリデーションについて Empower 分析法バリデーションマネージャ（MVM）を用いた例をご紹介します。MVM は種々のバリデーションテストパラメータに用いられますが、今回は真度、直線性、頑健性、併行精度、検出限界（LOD）、定量限界（LOQ）を例に示しています。また、メソッドバリデーションキットを利用し、同一カラムケミストリーの異なる 3 種類のバッチ間における分析法の信頼性を確保するために室内再現精度についても実施しました。Empower MVM の自動データー処理と、効率的な分析手順の作成（サンプルセット）を併せて用いることで、これら 6 項目について分析から解析まで 1 日で行うことが可能となり、バリデーション試験の追跡も容易に行えます。

実験

ACQUITY UPLC H-Class条件

移動相：	A: アセトニトリル
	D1:0.1% ギ酸水溶液（pH2.5）
カラム：	ACQUITY UPLC CSH C_{18}, 2.1×50 mm, 1.7 µm
	製品番号　186005296
ニードル洗浄溶媒：	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 at 254 nm
流速：	0.8 ml/min
注入量：	1 µL
カラム温度：	30℃
グラジエント時間：	0 → 4.3 分で 1 → 45% アセトニトリル その後初期条件で平衡化
データマネージメント：	Empower CDS 分析法バリデーションマネージャ（MVM）

サンプル調製

ジプラシドンの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

ジプラシドンの過酸化分解サンプルの分析法は、Empower および Fusion AE 分析法開発ソフトウェア、ACQUITY UPLC H-Class システムを用いて、QbD（Quality by Design）アプローチによりすでに開発されています [2]。Fusion で開発した分析法においては、全ての化合物が 4 分以内に溶出していることより、8.1 分間で 0 → 87.5% にアセトニトリル濃度を上げるグラジエント（オリジナル分析法）から、4.3 分間でアセトニトリル濃度を 1 → 45%に上げるグラジエントに分析法を調整し、オリジナルの条件では 12 分かかっていた分析時間を 6 分へ短縮しました。グラジエント勾配は変化していないため分離選択性を維持しています。ジプラシドンの過酸化分解により生成される不純物のスタンダードは入手困難なため、Empower MVM を用いて図 1 に示すジプラシドン原薬（API）及び過酸化分解により生じる 4 種の不純物の分離についてバリデーション試験を行いました。

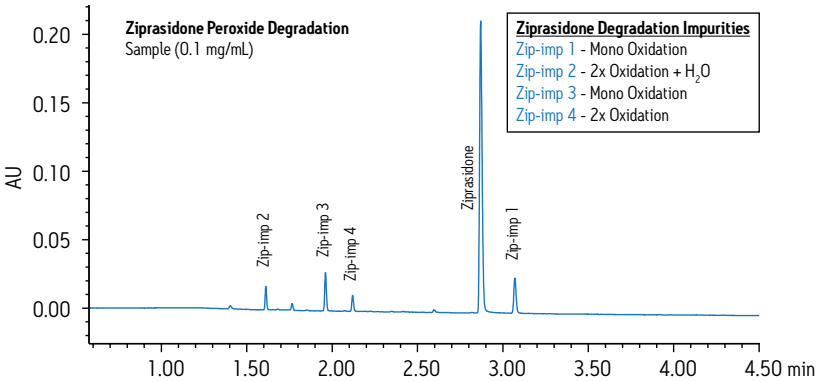

図 1　QbD アプローチを用いたジプラシドン過酸化分解物の分離

真度、直線性、併行精度、LOD（検出限界）/LOQ（定量限界）

真度はジプラシドン原薬（API）（0.1 mg/mL）を 100%として 5 種の濃度レベル（80、90、100、110、120%）を各 3 回サンプル調製し、評価しました。直線性は真度試験プロトコルと同範囲で評価を行いました。併行精度はジプラシドン原薬の濃度レベル 100%のサンプルを 6 回注入し試験を行いました。ジプラシドンの不純物の標準品は入手困難なため評価を行っていません。

真度、直線性、併行精度試験の合否基準は MVM のバリデーションプロトコル作成時に設定します。MVM を用いることで、真度、直線性、併行精度試験の 3 項目すべてを Empower で作成した 1 つのサンプルセットで完結できます。

バリデーションプロトコルにより定義された要件に基づき、分析法は、試験した範囲内で正確かつ直線性があり、併行精度も合否基準内で良好であることを確認しています（表 1）。得られた検量線の残差標準偏差を用い、ジプラシドン原薬（API）の LOD 及び LOQ を算出しました。効率的なサンプルセットと MVM により、一つのサンプルセットでこれらすべての試験を完結することが可能となり、サンプル調製および分析時間を大きく削減できます。Empower MVM による自動データー解析は、マニュアル解析を行うために、個々のスプレッドシートへデーター出力することなく、各試験の進捗および結果を迅速に判断することができます。

試験項目	合否基準	ジプラシドン	結果
真度	回収率　95-105%	97.6-101.5	合格
直線性	R_2<0.99	0.993	合格
	残差 <2% RSD	1.6	
併行精度	保持時間 <2% RSD	0.1	合格
	% 面積 <2% RSD	1.1	合格
LOD		0.004 mg/mL	
LOQ		0.0013 mg/mL	

表 1 ジプラシドンの真度、直線性、併行精度、検出限界（LOD）、定量限界（LOQ）結果

頑健性

頑健性は実験計画法（DoE）に基づいて MVM で構築されます。入力した要因に基づき、MVM では複数の要因について一度に検討する効率的な実験計画を作成することで、一時一事法と比較して大幅に時間短縮が可能です。この検討では、変動要因として流速（0.7-0.9 mL/min）、カラム温度（30 ～ 60℃）、注入量（0.5 ～1.5µL）を用いました。8 回の分析ですべての要因についての検討を行います。

評価は、ジプラシドン原薬（API）と 4 種の分解生成物についてピーク保持時間の RSD および % 面積の RSD を用いました（表 2）。この分析法は、評価する 3 つの要因すべてに対してバリデーションプロトコルに定義された合格基準内で頑健であることを示しています。MVM の実験計画法及び複数要因の自動解析により、バリデーション試験における頑健性の評価を大幅に効率化します。

試験項目	合否基準	ジプラシドン	Zip-imp 1	Zip-imp 2	Zip-imp 3	Zip-imp 4	結果
併行精度	保持時間 <10% RSD	5.6	5.3	8.2	7.5	7.1	合格
	% 面積 <2.5% RSD	1.2	0.7	2.1	1.6	1.5	

表 2　ジプラシドンと 4 種の不純物の頑健性試験結果

室内再現精度

分析法の室内再現精度（もしくは堅牢性）はメソッドバリデーションキット（MVK）を用いてカラムバッチ間の評価を行いました。MVK には同一カラムケミストリーで、バッチが異なる 3 本のカラムが含まれていますので、バッチの異なるカラムを用いた際の分析において見られる可能性のある変動性を最大限引き出せます。ジプラシドンの過酸化分解物について異なるバッチの ACQUITY UPLC CSH C_{18} カラムでの分析結果を図 2 に示しました。MVK により同一カラムでバッチが異なる 3 本のカラムを容易に入手でき、分析法開発およびバリデーションの両方に用いることで、分析法のライフタイムに渡ってカラムを交換した場合についても、分析法の堅牢性を確実にします。

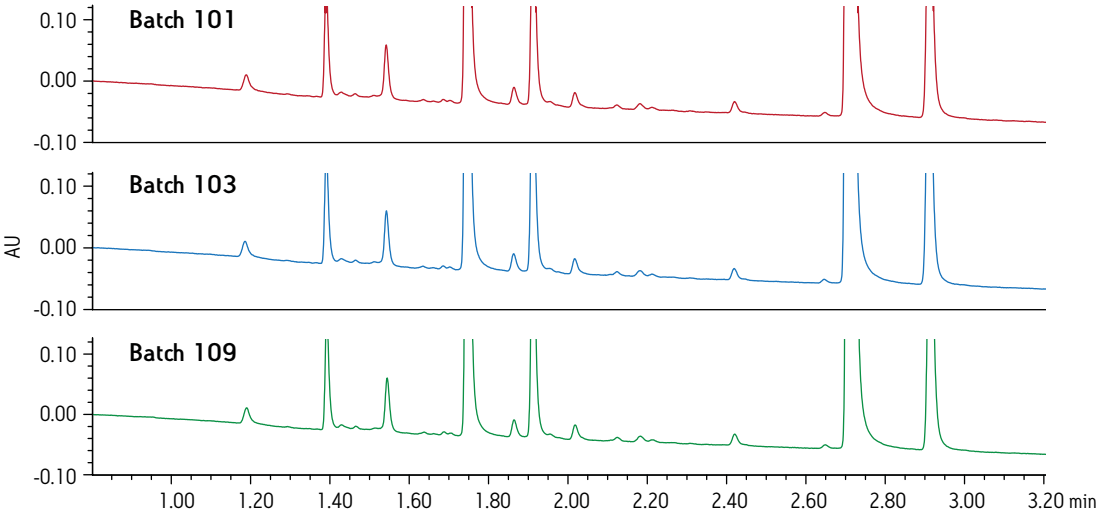

図 2 メソッドバリデーションキットを用いて、異なる 3 バッチの CSH C_{18} カラムでジプラシドンの過酸化分解物分析を比較した拡大図

3 回調製したジプラシドン過酸化分解物サンプルを、ACQUITY UPLC CSH C_{18}MVK の 3 バッチのカラム全てを用いて分析しました。ジプラシドンと 4 種の不純物について、保持時間の RSD およびピーク面積の RSD を用いて室内再現精度を評価しました（表 3）。この結果は定義された合否基準内であり、異なるバッチのカラム間で分析法の堅牢性を実証しています。

試験項目	合否基準	Ziprasidone	Zip-imp 1	Zip-imp 2	Zip-imp 3	Zip-imp 4	結果
室内再現精度	Ret Time <2% RSD	1.1	1.1	1.1	0.9	0.8	合格
	Peak Area <5% RSD	1.7	2.1	2.6	3.8	4.9	

表 3　ジプラシドンおよび 4 種の不純物をメソッドバリデーションキットの 3 種類のカラムバッチ間で分析を行った室内再現精度の結果

結論

- Empower MVM を用いたバリデーションアプローチは、効率的なサンプルセット（分析手順）と実験計画法により、一時一事法でセットアップして分析を行うよりもはるかに早くバリデーション試験を行うことができます。ジプラシドン不純物分離のバリデーションでは、6 項目のバリデーションテストパラメーターの実施とすべての解析を 1 日で行いました。

- メソッドバリデーションキットを用いた室内再現精度評価は、3 種類の異なるバッチのカラムを用いることで長期間の堅牢性を確保し、使用カラムが 1 本のみ、もしくは充てん剤が1バッチのみの場合に起こりうる、分析法開発における再現性の問題や下流工程での再バリデーションのリスクを低減します。

- Empower MVM を用いた分析法バリデーションではバリデーションのための追加ソフトウェアは必要ありません。MVM を用いることで、マニュアル解析のためのスプレッドシートへのデーター変換の必要がなく転記ミスを防ぐことができます。分析及び解析されたすべてのサンプルを一元管理し、トレーサビリティーを向上させることで、データーの安全性を改善し、監査における信頼性を確実にします。

REFERENCES

1. Root, D.S., Aubin, A.J. *"Empower 2 Method Validation Manager Software: Tool for Rapid Method Validation,"* Waters Application Note [2007], Part Number 720002401EN.

2. Summers, M., Fountain, K.J. *"A Quality by Design (QbD) Based Method Development for the Determination of Impurities in a Peroxide Degraded Sample fo Ziprasidone,"* Waters Application Note [2011], Part Number 720004072EN.

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 720004077 JA PDF