[TECHNOLOGY BRIEF]

グラジエントSmartStart機能を用いたAgilent 1100シリーズLCシステムからACQUITY UPLC H-Classシステムへの分析法移管：原薬（API）及び類縁化合物の分析

Paula Hong and Patricia R. McConville

目的

Agilent 1100シリーズLCシステムからACQUITY UPLC® H-Classシステムへ APIとその類縁化合物の逆相LCグラジエント分析法を移管

背景

原薬（API）及びその類縁化合物の薬剤のライフサイクルにわたり安全性と有効性の検証をHPLC分析によって実施するケースが多くあります。一般的に規制下のラボにおいて実施されるこれらの分析は、分析法の変更は制限されている、もしくは認められておらず、変更する場合は再バリデーションを実施しなければなりません。一方で従来から使用している分析法は旧来のHPLCシステムで開発されており、それらの分析法を最新のUHPLCシステムに移管するという要望が存在します。その場合は限られたリソースで実施するもしくは完全にUHPLC法に変更されます。分析法を異なるHPLC/UHPLCシステム間で移管する場合、一般的には新しいシステムは以前の分析法/システムと同じ分離を再現し、システム適合性要件に適合しなければいけません。[1] しかし、各システムの様々な特徴が分析法移管に影響を及ぼします。グラジエント分析を適用している場合、分析法移管はDwell容量の影響を大きく受けます。ミキサー、バルブ、インジェクターに起因するDwell容量は同じメーカーの製品であっても装置の種類によって異なります。グラジエント分析法の移管においては、システムの特徴を考慮し、グラジエントテーブルを調整する必要があります。[1]

グラジエントSmartStart機能を活用することでACQUITY UPLC H-Classシステムへの分析法移管が容易になります

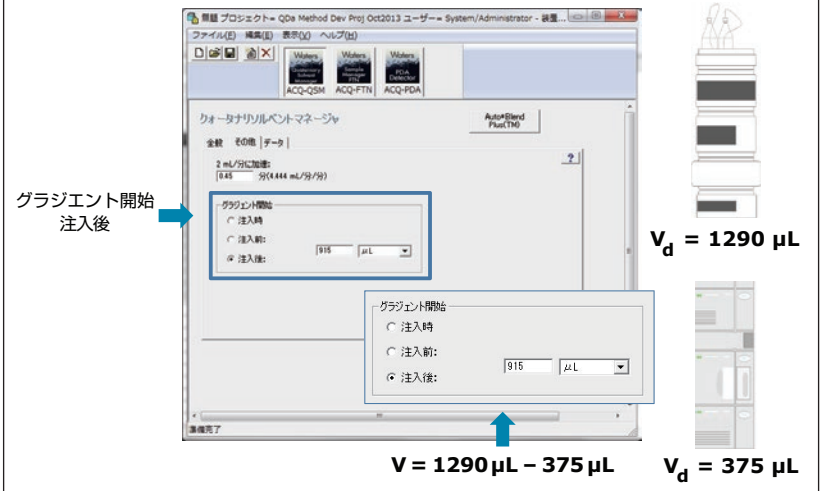

図 1. ACQUITY UPLC H-Class クオータナリーソルベントマネージャの装置メソッド編集画面。グラジエント SmartStart 機能を使用することで、注入前もしくは注入後のグラジエントスタートの調整を行い、装置間の分析法移管時のサポートをします。この例では、両システムのシステムボリュームを測定し、システムボリュームの差を ACQUITY UPLC H-Class システムのメソッドに入力します。

Agilent 1100シリーズLCシステム		ACQUITY UPLC H-Classシステム	
モジュール	パーツ番号	モジュール	パーツ番号
デガッサー	G1322A		
クオータナリーポンプ	G1311A	クオータナリーソルベントマネージャ	186015018
オートサンプラー	G1313A	サンプルマネージャFTN	186015017
カラムコンパートメント	G1316A	カラムヒーター（CH-A）	186015042
DAD検出器	G1315B	PDA検出器	186015032

表 1. システムモジュールとパーツ番号。クロマトグラフィーデータシステム：Empower® 3 FR2

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

ソリューション

以前報告したAbacavirとその類縁化合物の分析法を[2] Agilent 1100 シリーズ LC システムから ACQUITY UPLC H-Class システムへ移管しました（表 1）。Agilent 1100 シリーズ LC システムは移動相のパッシブプレヒーター機能（3 µL）を、ACQUITY UPLC H-Class システムはアクティブプレヒーター機能を搭載しています。グラジエントディレイの差を検証するために、両システムの Dwell 容量を測定しました。[3] Dwell 容量は Agilent 1100 シリーズ LC システムが大きく、ACQUITY UPLC H-Class システムとの Dwell 容量の違いを調整するために ACQUITY UPLC H-Class システム分析に 915-µl の "注入後" ディレイを使用しました。ディレイはグラジエント SmartStart 機能を用いて装置メソッドに分もしくは µL で直接入力することができます。[4]（図 1）分析法開発において Dwell 容量の違いを調整する機能はグラジエントテーブルのマニュアル変更の手間や分析法の再バリデーションを回避することが可能です。容量をグラジエント SmartStart 機能に入力するだけで、分析法の調整を行うことができます。

Agilent 1100 シリーズ LC システムと ACQUITY UPLC H-Class システムの両システムにおいて、同等の分離結果を得ることができました（図 2）。Abacavir 及びその類縁化合物は全ての分析種においてシステム間で保持時間が 0.2 分以内もしくは偏差が 3% 以内でした（表 2）。API に対する相対保持時間は類縁化合物において偏差は 0.01% 以内でした。最も重要な API と類縁化合物 3 の USP 分離能は両システムにおいて 2.5 以上で、分析法の移管時に有意な分離能の低下は見られませんでした。両システムにおいて API と類縁化合物の % 面積の偏差は 0.2% 以内でした。

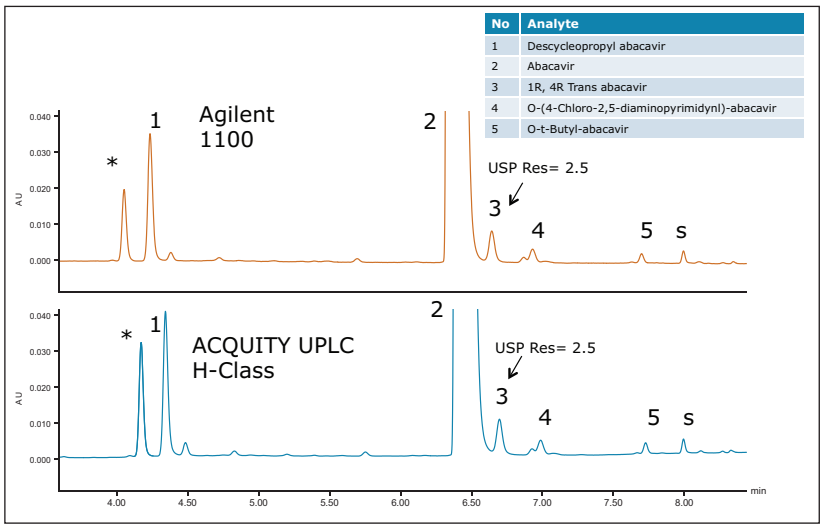

*図 2. Abacavir 及びその類縁化合物の分析法移管。Agilent 1100 シリーズ LC システム、カラムは CORTECS® C_{18} 2.7 µm、4.6 × 75 mm を使用。ACQUITY UPLC H-Class システムへの分析法移管においては、API（2）と類縁化合物（3）において同等の分離結果が得られました。（s = 溶媒ピーク *= 未知の分析種）*

化合物	保持時間（分）			相対保持時間			% 面積		
	Agilent 1100	ACQUITY UPLC H-Class	%偏差	Agilent 1100	ACQUITY UPLC H-Class	絶対偏差	Agilent 1100	ACQUITY UPLC H-Class	絶対偏差
unknown	4.05	4.17	2.96	0.64	0.65	0.01	1.84	1.75	0.09
1	4.23	4.35	2.84	0.67	0.68	0.01	2.4	2.42	0.02
2-Abacavir	6.34	6.4	0.95	1.00	1.00	n/a	94.23	94.38	0.15
3	6.64	6.7	0.90	1.05	1.05	0.00	0.68	0.66	0.02
4	6.93	6.99	0.87	1.09	1.09	0.00	0.34	0.31	0.03
5	7.70	7.73	0.39	1.21	1.21	0.00	0.16	0.16	0.00

表 2. Agilent 1100 シリーズ LC システムと ACQUITY UPLC H-Class システムの Abacavir およびその類縁化合物の平均保持時間と%面積の比較。5 回繰り返し分析を実施。両システムにおいて保持時間の偏差は 3% 以内、相対保持時間とピーク面積（%）の絶対偏差は 0.2 以内でした。

化合物	保持時間（分）				ピーク面積			
	Agilent 1100		ACQUITY UPLC H-Class		Agilent 1100		ACQUITY UPLC H-Class	
	標準偏差	%RSD	標準偏差	%RSD	標準偏差	%RSD	標準偏差	%RSD
1	4.64E-03	0.10	1.10E-03	0.03	2.22E+03	2.57	8.27E+02	0.88
2-Abacavir	6.12E-03	0.10	2.12E-03	0.03	5.25E+04	1.55	1.61E+03	0.04
3	5.81E-03	0.08	1.52E-03	0.02	4.17E+02	1.70	3.77E+01	0.15
4	5.54E-03	0.08	1.92E-03	0.03	2.49E+02	2.05	4.88E+01	0.40
5	4.34E-03	0.06	1.10E-03	0.01	1.06E+02	1.85	4.58E+01	0.72

表 3. Agilent 1100 シリーズ LC システムと ACQUITY UPLC H-Class システムの Abacavir 及びその類縁化合物分析における保持時間とピーク面積の再現性の比較。5 回繰り返し分析を実施。両システムにおいて相対標準偏差は保持時間で 0.2% 以内、ピーク面積で 3% 以内でした。

保持時間と相対保持時間は多くの分析法で同定の目的に使用されます。[5,6] 分析法を別のメーカーの製品に移管する場合、一般的に保持時間の変動の許容値は 3-5% と言われています。[7] 今回はその許容値に適合する結果が得られました。

再現性の評価においては、両システムで 5 回の繰り返し分析を実施しました。標準偏差と%相対標準偏差（%RSD）を計算しました（表 3）。両システムにおいて、すべての既知の分析種において保持時間の %RSD は 0.2% 以下、ピーク面積の %RSD は 3% 以下でした。更に ACQUITY UPLC H-Class システムでは全ての分析種において Agilent 1100 シリーズ LC システムと比較して、ピーク面積の %RSD では良好な結果が得られています。注入再現性においても両システムで許容できる値（RSD < 3%）が得られ、ACQUITY UPLC H-Class システムではピーク面積の %RSD によって Agilent 1100 シリーズ LC システムと比較したインジェクション間のばらつきは若干ですが良好な結果が得られました。

まとめ

Abacavir 及びその類縁化合物分析において、問題なく Agilent 1100 シリーズ LC システムから ACQUITY UPLC H-Class システムへ分析法を移管することができました。分析法を移管しても分離は維持されており、保持時間、相対保持時間共に 2% 以内でした。今回の検討では、注入再現性の %RSD は Agilent 1100 シリーズ LC システムと比較して ACQUITY UPLC H-Class システムが良好な結果が得られました。更に装置メソッドのグラジエント SmartStart 機能を利用することでグラジエントテーブルをマニュアルで調整することなく分析法にシステム容量の差を反映することができます。今回の結果より、Agilent 1100 シリーズ LC システムから ACQUITY UPLC H-Class システムへの分析法移管を最小の分析法 / システムの調整で実施可能であることが分かりました。

参考文献

1. Chapter <621> CHROMATOGRAPHY. United States Pharmacopeia and National Formulary (USP 37-NF 32 S2) Baltimore, MD: United Book Press, Inc.; 2014. p. 6376–85.
2. Waters Corporation. CORTECS Columns Applications Notebook. Milford, MA 2013.
3. Protocol for Gradient Delay (Dwell Volume) Measurement. Transferring Compendial HPLC Methods to UPLC Technology. Application Notebook: Waters Corporation; 2013. p. 67–8.
4. Gradient SmartStart Technology. ACQUITY UPLC H-Class System Guide Revision B. Milford, MA: Waters Corporation; 2010. p. 5–6.
5. Dolan JW. System Suitability. LC•GC Europe [serial on the Internet]. 2004; 17(6).
6. Frequently Asked Questions, Chromatography. U.S. Phamacopeial Convention; [cited 2014]; Chromatpgraphy]. Available from: http://www.usp.org/support-home/frequently-asked-questions/chromatography.
7. Easy Transfer of Standard HPLC Methods to the Agilent 1200 Series Rapid Resolution System. Agilent Technologies, Inc; 2006.

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

日本ウォーターズ株式会社 www.waters.com
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 札幌 富山

Waters、ACQUITY UPLC、CORTECS、Empower および The Science of What's Possible は Waters Corporation の登録商標です。
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。

©2015 Waters Corporation. Produced in Japan. 2015年 1月 720005252JA PDF