[TECHNOLOGY BRIEF]

医薬品原料臭化セトリモニウムの分析における質量検出の利点

Margaret Maziarz, Mark Wrona, Diane Diehl, and Gordon Carlson
Waters Corporation, Milford, MA, USA

目的

臭化セトリモニウム多段階滴定アッセイの代わりとして、ACQUITY® QDa® 検出器と組み合わせた ACQUITY UPLC® を用いた迅速な原料検査の利点を実証します。

背景

医薬品原料は、異なる製剤の製造に基質として使用されます。原料は、医薬品活性成分（API）、賦形剤、およびその他の不活性成分を含みます。賦形剤は、一般的に薬理効果を持ちませんが、充填剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、および保存料として機能する必須成分です。

臭化セトリモニウム（CTAB）は細菌および真菌の増殖を防止するために使用される防腐剤です。また、化粧用殺生物剤、界面活性剤、および保存料としても使用されます。米国薬局方（USP）モノグラフに記載されている臭化セトリモニウムの分析方法は、クロロホルムを用いた、多段階の液液抽出で調製した試料溶液の滴定分析が採用されています。これは複雑で時間のかかる手順で、QC ラボ内のルーチン分析試験には理想的ではありません。

ACQUITY QDa 検出器を用いた UPLC メソッドは複雑なサンプル調製を伴う滴定分析を不要にし、その結果、時間が短縮され生産性が向上します。

Cetrimonium bromide
- Molecular formula: $C_{19}H_{42}BrN$
- Average mass: 364.45 Da
- Monoisotopic mass: 363.25 Da
- Free base monoisotopic mass: 284.33 Da
- Detected mass: M^+= 284.3 Da

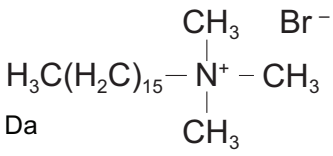

図 1. 臭化セトリモニウムの構造と分子情報

この堅牢かつ迅速な UPLC® による分析方法は、多段階滴定定量法に代わる臭化セトリモニウム定量を目的として大手バイオ医薬品会社で使用いただけるように開発しました。

本テクノロジーブリーフでは、小型で堅牢な質量検出器 - ACQUITY QDa と組み合わせた UPLC を使用した迅速な原料試験例を紹介します。

今回は、ストック濃度 0.4 mg/ mL の臭化セトリモニウムを水で溶解して調製しました。その後、ストック溶液を、2.5 µg/ml の標準濃度まで水で希釈しました。

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

クロマトグラフィー分離は、図 2 に記載の条件を用いて ACQUITY UPLC H-Class システムで行いました。

Parameter	Description
System	ACQUITY UPLC H-Class with ACQUITY QDa and PDA
Column	ACQUITY UPLC CSH C_{18}, 2.1 x 50 mm, 1.7-µm
Column temp.	40 °C
Flow rate	0.6 mL/min
Injection vol.	1.0 µL
Mobile phase	Solvent A: 1% Formic acid in water (low pH) Solvent C: Water Solvent D1: Acetonitrile
Gradient	
Wash solvents	Purge: 50:50 water/acetonitrile Sample wash: 90:10 water/acetonitrile Seal wash: 90:10 water/acetonitrile
PDA detection	200 – 500 nm
Mass detection	**ACQUITY QDa (extended performance)** Ionization mode: ESI+, ESI- Acquisition range: 150 – 350 Da

	Time	Flow (mL/min)	%A	%B	%C	%D	Curve
1	Initial	0.600	10.0	0.0	40.0	50.0	Initial
2	2.00	0.600	10.0	0.0	0.0	90.0	6
3	2.50	0.600	10.0	0.0	0.0	90.0	6
4	2.60	0.600	10.0	0.0	40.0	50.0	6
5	4.50	0.600	10.0	0.0	40.0	50.0	6

図 2. 臭化セトリモニウム分析の UPLC 分析条件

臭化セトリモニウムには UV 検出に必要な発色団が存在しないので、UV によって検出することができません。しかし、ACQUITY QDa 検出器においては、イオン化が容易で堅牢な MS シグナルを生成します。図 3 に、臭化セトリモニウムのいくつかのクロマトグラムを示しました。予想されたように、215 nm での UV クロマトグラムでは検出されませんでした（図 3a）。全質量範囲（150 – 350 Da）にわたって収集した ACQUITY QDa データは、トータルイオンカレント（TIC）クロマトグラムと呼ばれています（図 3b）。TIC クロマトグラムは、図 3c に示されるように、目的の化合物に特異的な質量 284.3 Da の抽出イオンクロマトグラム（XIC）で抽出することができます。標的化合物を定量するために、関心のあるピークのみをスキャンし、S/N および感度をさらに向上しよりシンプルに分析できる選択イオンレコーディング（SIR）スキャンモードを使用してシンプルに収集することができます（図 3d）。ACQUITY QDa 検出器は、複雑なサンプル調製手順を排除し、発色団をもたない臭化セトリモニウムの直接検出を可能にしました。

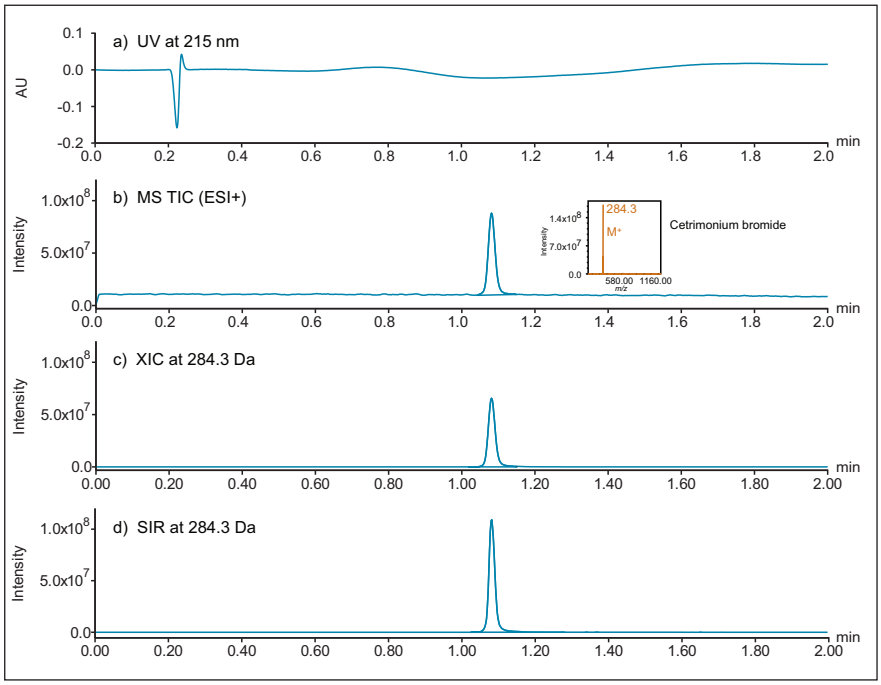

図 3. 臭化セトリモニウムための UV クロマトグラムおよびマスクロマトグラム PDA と ACQUITY QDa 検出器を用いて ACQUITY UPLC H-Class システムで取得

System Suitability Report 2

Sample Set ID: 2565
Result Set ID: 6781
Channel Name: QDa 2: SIR Ch1

Name: Cetrimonium Br

	Name	Inj	RT	Area	USP Tailing	K Prime
1	Cetrimonium Br	1	1.086	132801434	1.1	3.3
2	Cetrimonium Br	2	1.085	132176370	1.1	3.3
3	Cetrimonium Br	3	1.084	133458598	1.1	3.3
4	Cetrimonium Br	4	1.084	133265613	1.1	3.3
5	Cetrimonium Br	5	1.082	130749136	1.1	3.3
6	Cetrimonium Br	6	1.082	130945752	1.1	3.3
Mean			1.084	132232817	1.1	3.3
Std. Dev.			0.002	1162201.831		
% RSD			0.16	0.88		

図 4. 試料溶液の 6 回繰り返し注入による 284.3 Da の SIR マスデータのシステム適合性結果

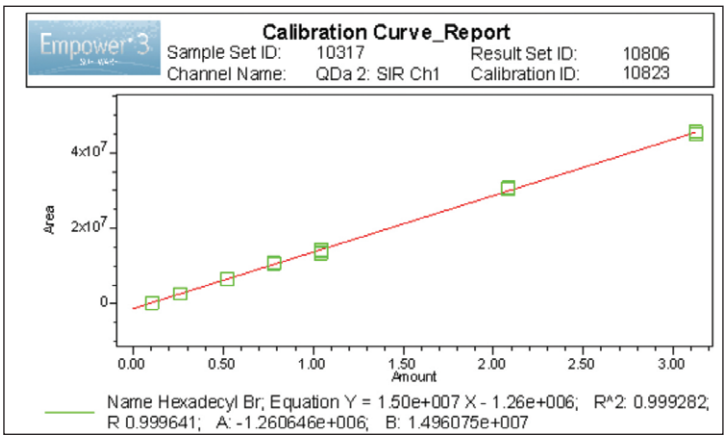

図 5. 284.3 Da の SIR マスデータを使用した臭化セトリモニウムの直線性

システム適合性

開発した UPLC メソッドの性能は USP General Chapter, <621>, Chromatography の定義に基づいて、2.5 µg/mL の標準溶液の 6 回繰り返し注入の再現性を評価することによって確認しました。UPLC システム適合性結果は 284.3 Da の SIR マスデータを使用しました（図 4）。保持時間および面積再現性は USP の適合性要件の範囲内の RSD 2%未満でした。

直線性

284.3Da の SIR で臭化セトリモニウムを検出する方法の直線性を 0.1 µg/ mL から 3 µg/ mL の範囲の濃度にわたって評価しました。その結果、相関係数 (R_2) ≥ 0.999 で臭化セトリモニウムのピーク面積と濃度との間で良好な直線性を示しました（図 5）。

まとめ

ACQUITY UPLC と ACQUITY QDa で開発された UPLC-MS 法は、複雑なサンプル調製手順を不要にし、原料の迅速かつ容易な確認と定量が可能です。これは、時間の短縮と生産性の向上をもたらし、加えて、良好なシステム適合性と直線性が得られました。ACQUITY QDa 検出器は容易に相補的な検出技術として追加することができ、堅牢で使いやすい質量検出器です。QC ラボにおいてルーチン試験するために理想的なこの技術は、正確かつ信頼性の高い結果を提供します。

参考文献

1. Overview of pharmaceutical excipients used in tablets and capsules, http://drugtopics.modernmedicine.com/drug-topics/news/modernmedicine/modern-medicine-news/overview-pharmaceutical-excipients-used-tablets, October 24 2008.
2. http://www.ewg.org/skindeep/ingredient/717624/CETRIMONIUM_BROMIDE/
3. USP Monograph, Cetrimonium Bromide, USP37-NF32, The United States Pharmacopeia Convention, official August 1, 2014.
4. USP General Chapter, <621>, Chromatography, USP37-NF32, The United States Pharmacopeia Convention, official August 2, 2014.

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、ACQUITY UPLC、QDa、UPLC 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 3月 720005265JA PDF