[TECHNOLOGY BRIEF]

Agilent 1260 Infinity LCシステムから ACQUITY Arcシステムへの、メトクロプラミド塩酸塩および類縁物質の分析法移管

Margaret Maziarz and Mark Wrona

目的

Agilent 1260 Infinity LC システムから ACQUITY® Arc™ システムへ、メトクロプラミド塩酸塩および類縁物質の HPLC 分析法を移管し、分離とシステム適合性試験の結果を比較します。

背景

医薬品有効成分（API）と類縁物質の分析は、最終的な製剤の安全性と有効性を担保するために、各製造事業者にて実施される必要があります。このような試験は、社内の各所や分析受託機関で、様々な分析機器メーカーの装置を用いて行われます。そのため、製品の一貫性を確実にし、規制を遵守するために、異なる装置間での円滑な分析法移管は欠かせません。有効な分析法移管であれば、同じ分析については装置・実験室・資材に関わらず、同等の結果が得られます。時間もコストもかかる再バリデーションが不要になるため、同等の結果を得ることは重要です。

今回の検討では、メトクロプラミド塩酸塩と類縁物質の分析を、Agilent 1260 Infinity LC システムから ACQUITY Arc へ移管しました。

新しいシステムへの分析法移管の評価は、クロマトグラムにおける分離の試験と、USP General Chapter <621> クロマトグラフィー[1] で定められたシステム適合性試験による検証により行いました。

ACQUITY Arc システムは、Agilent 1260 Infinity LC システムで得られる分離を問題無く再現し、信頼性・頑健性・再現性のよい結果が得られます。

化合物	一般名
API	Metoclopramide HCl
Impurity A	4-Acetamido-5-chloro-N-(2-(diethylamino) ethyl)-2-methoxybenzamide
Impurity B	Methyl 4-acetamido-5-chloro-2-methoxybenzoate
Impurity C	4-Amino-5-chloro-2-methoxybenzoic acid
Impurity D	Methyl 4-acetamido-2-methoxybenzoate
Impurity F	4-Amino-5-chloro-N-(2-(diethylamino) ethyl)-2-hydroxybenzamide
Impurity G	2-(4-Amino-5-chloro-2-hydroxybenzamido)-N,N-diethylethanamide oxide
Impurity H	4-Acetamido-2-hydroxybenzoic acid
Impurity 9	Methyl 4-amino-2-methoxybenzoate

表 1. 分析法移管に用いたメトクロプラミド塩酸塩の USP 特定類縁物質リスト

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

ソリューション

表 1 に記載のメトクロプラミド塩酸塩と類縁物質を分析しました。各試料を 1.0 mg/mL となるようメタノールで希釈してストック溶液としました。メトクロプラミド塩酸塩のストック溶液は、0.5 mg/mL となるよう水で希釈し、類縁物質は 1.0% となるようにスパイクしました。各成分がそれぞれ 0.05 mg/mL となるよう水で希釈して一つのバイアルに混合し、15 µg/mL となるよう希釈溶媒（メタノール / 水溶液 =50:50）にて希釈したものを、システム適合性試験で用いました。

この分析条件で、まず Agilent 1260 Infinity システムにて分析を行い、続いて ACQUITY Arc システムへ移管しました。ACQUITY Arc システムは、従来の装置で開発された分析条件を効率的に移管するための、新しい Multi-flow path™ テクノロジーを備えています。移管した条件の詳細を図 1 に記載しています。

図 2 は、Agilent 1260 Infinity LC システムと ACQUITY Arc システムにおける、類縁物質を 1.0% 含むメトクロプラミド塩酸塩（API）の分析結果です。ACQUITY Arc システムでの分離は、Agilent 1260 Infinity システムにて得られた分離と同等です。

メトクロプラミド塩酸塩と類縁物質の同定を確実にするために、ACQUITY Arc システムに ACQUITY QDa® 検出器を接続して、マススペクトルのデータを取得しました。Empower® 3 ソフトウェアの質量分析ウィンドウでは、UV スペクトルとマススペクトルが一つの結果から表示されます（図 3）。MS スペクトルのデータが加わることで、UV 検出のクロマトグラムの情報が強化され、迅速にサンプル中の成分を同定できるようになります。

ACQUITY Arc システムでの HPLC 分析条件の性能を確認するため、USP General Chapter <621> クロマトグラフィー[1] で定められた要件に従って、5 回連続注入によるシステム適合性試験を行いました。このデータを Agilent 1260 Infinity LC システムのデータと比較したところ、どちらのシステムでの分析結果も USP の基準を満たす結果となりました（表 2）。保持時間とピーク面積の繰り返し注入再現性は %RSD<2.0 と、USP の基準より有意に低く、Agilent 1260 Infinity LC システムと同等です。全てのピーク間の USP 分離度も二つのシステムで同等で、分析法移管により分離は低下しなかったことが示されます。USP テーリング係数も同等となりました。

パラメーター	詳細
LCシステム	Agilent 1260 Infinity LC システム（クォータナリー SLポンプ、低拡散熱交換器（3 µL）、DAD検出器 ACQUITY Arc システム（2998PDA検出器、ACQUITY QDa 検出器、パッシブプレヒーター、パス1）
カラム	XSelect® CSH C_{18} 4.6 × 150 mm、5 µm
カラム温度	45℃
流量	2.9 mL/分
注入量	1.0 µL
移動相	A：0.1%ギ酸水溶液 B：0.1%ギ酸含有メタノール
グラジエント	

	時間	流量 (mL/分)	%A	%B	%C	%D	曲線
1	初期値	2.900	95.0	5.0	0.0	0.0	初期値
2	15.00	2.900	40.0	60.0	0.0	0.0	6
3	16.50	2.900	40.0	60.0	0.0	0.0	6
4	16.80	2.900	95.0	5.0	0.0	0.0	6
5	21.00	2.900	95.0	5.0	0.0	0.0	6

洗浄溶媒	パージ溶媒:水/メタノール=50:50 ニードル洗浄溶媒：水/メタノール=50:50 シール洗浄溶媒：水/アセトニトリル=90:10
PDA検出	検出波長210-400 nm、抽出波長270 nm サンプリングレート：20ポイント/秒
質量検出	**ACQUITY QDa 検出器**（ACQUITY Arcシステムのみ） イオン化モード：ESI+、ESI− スキャン範囲：100-440 *m/z*

図 1. Agilent 1260 Infinity LC システムから ACQUITY Arc システムへ移管する、メトクロプラミド塩酸塩と USP 特定類縁物質の HPLC 条件

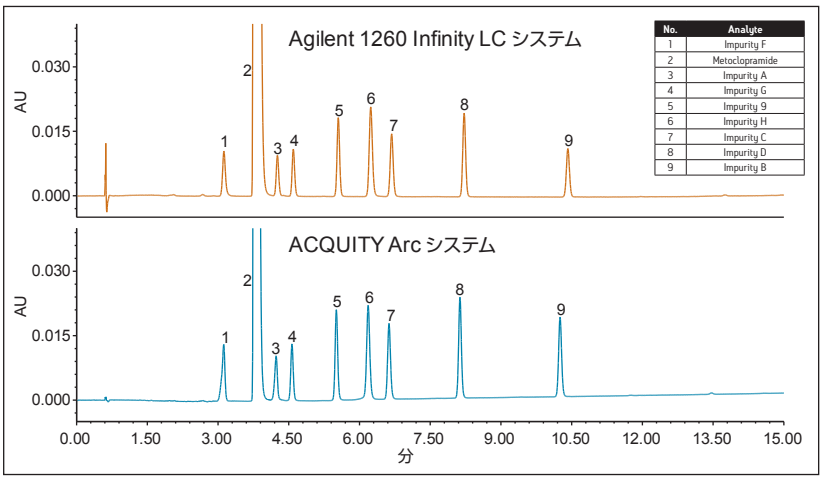

図 2. Agilent 1260 Infinity LC システムから ACQUITY Arc システムへ移管した、メトクロプラミド塩酸塩（API）0.5 mg/mL と類縁物質 1.0% の分析結果のクロマトグラム

ACQUITY Arc システムは、Multi-flow path テクノロジーによって、様々な装置による分析を容易に受け入れ、再現することができます。確立された分析法を変更する必要はありません。LC の性能を強力に発揮し、ACQUITY QDa 検出器や Empower クロマトグラフィーデータシステム（CDS）などの新しい技術と適合させることで、ラボへの投資がさらに確かなものとなります。

まとめ

メトクロプラミド塩酸塩と類縁物質の HPLC 分析法は、Agilent 1260 Infinity LC システムから ACQUITY Arc システムへ問題無く移管することができました。ACQUITY Arc システムは、Agilent 1260 Infinity システムと同等のクロマトグラム分離を問題無く再現し、USP で規定されているシステム適合性試験の要求を満たしました。cGLP（current Good Laboratory Practice, 優良試験所基準）の規制下にある実験室にとって、システム適合性試験を満たすことは重要です。また、ACUQITY QDa 検出器を UV 検出器と併用することで、MS による迅速なピークの同定も可能になります。

このように、ACQUITY Arc システムは、信頼性・頑健性・再現性のよい分析結果を出し、QC ラボでのスループットと効率を向上させます。

参考文献

1. USP General Chapter <621> Chromatography, USP 37-NF 32, *The United States Pharmacopeia Convention*, Official December 1, 2014.

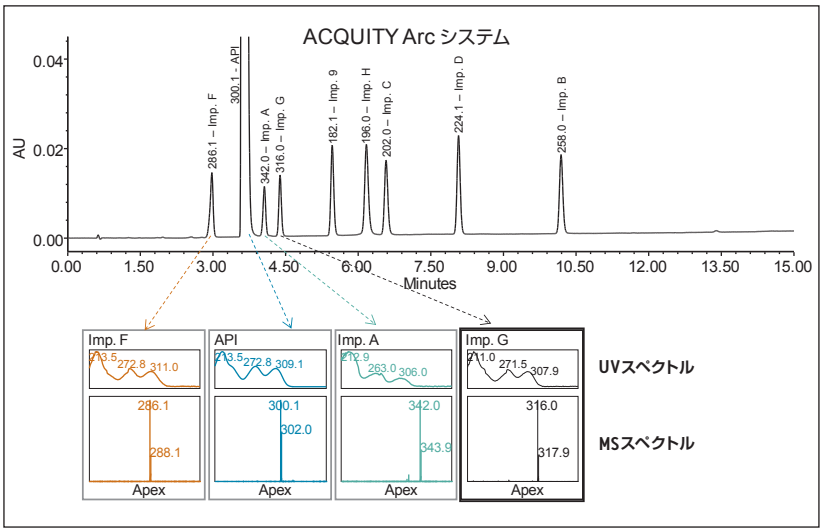

図 3. ACQUITY QDa 検出器で取得した MS スペクトルのデータを用いた質量検出により、ピークの同定が確実になります。Empower 3 ソフトウェアの質量分析ウィンドウでは、UV スペクトルと MS スペクトルを一括して表示します。

化合物	保持時間の %RSD		ピーク面積の %RSD		USP 分離度		USPテーリング係数	
	Agilent 1260	ACQUITY Arc	Agilent 1260	ACQUITY Arc	Agilent 1260	ACQUITY Arc	Agilent 1260	ACQUITY Arc
Imp. F	0.05	0.09	0.26	0.04	n/a	n/a	1.2	0.9
API	0.04	0.05	0.11	0.10	7.0	6.5	1.2	1.1
Imp. A	0.03	0.04	0.11	0.02	3.7	3.6	1.1	1.0
Imp. G	0.03	0.03	0.12	0.13	3.4	3.3	1.1	1.1
Imp. 9	0.00	0.03	0.08	0.18	9.4	10.3	1.1	1.1
Imp. H	0.02	0.03	0.21	0.20	6.0	5.6	1.1	1.1
Imp. C	0.01	0.02	0.18	0.36	3.6	3.1	1.1	1.1
Imp. D	0.01	0.04	0.10	0.16	13.2	11.8	1.0	1.1
Imp. B	0.02	0.03	0.14	0.22	18.4	16.5	1.0	1.1

表 2. 分析法移管を行った Agilent 1260 Infinity LC システムと、ACQUITY Arc システムにおける、繰り返し注入再現性（N＝5）のシステム適合性試験結果

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 新大阪トヨタビル11F TEL 06-6304-8888 FAX 06-6300-1734
ショールーム 東京 大阪
サービス拠点 東京 大阪 札幌 福島 静岡 富山 名古屋 徳島 福岡

Waters、ACQUITY、QDa、XSelect、Empower および The Science of What's Possible は Waters Corporation の登録商標です。
Arc および Multi-flow path 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。
©2015 Waters Corporation. Produced in Japan. 2015年 8月 720005420JA PDF