Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

Empower 3 MS ピークトラッキングを用いた分析法開発の効率化

Margaret Maziarz and Mark Wrona
Waters Corporation, Milford, MA, USA

Empower® 3 MS ピークトラッキングは、質量検出による正確な各ピークのトラッキングを可能にし、効率的な分析法開発を実現します。

目的

塩酸メトクロプラミドと類縁物質の、質量検出と Empower 3 MS ピークトラッキングを使用したUPLC®分析法開発。

背景

一般的に分析法開発には、カラム、有機溶媒、バッファー、グラジエントの勾配、流速、温度その他の要因など、一連のクロマトグラフィーパラメーターのスクリーニングが含まれます。異なる固定相のカラムでは、化合物の選択性が変化することがあるため、正確なピーク溶出および同定のためにピークトラッキングが必要です。ピークトラッキングが不正確な場合は、ピークの誤同定、開発時間の延長の原因となり、ラボの効率および生産性を低下させます。また、不純物の誤同定より、医薬品の安全性が損なわれる恐れもあります。類縁物質については、UV トラッキングでは純度の高い標準溶液を使用した個別の注入が必要になり、ラボのワークフローの効率が低下します。

ピークトラッキングにマススペクトルを使用すると、分析法開発時の各ピーク溶出を正確にモニタリングすることが可能です。今回の実験では、ACQUITY® QDa® 検出器によって得られたマススペクトルを活用し、質量検出により各ピークを同定します。Empower 3 の新機能である MS ピークトラッキングを使用した一連のカラムスクリーニングにおいて、メトクロプラミド活性医薬成分(API)及びその USP 類縁物質の挙動をモニタリングします。

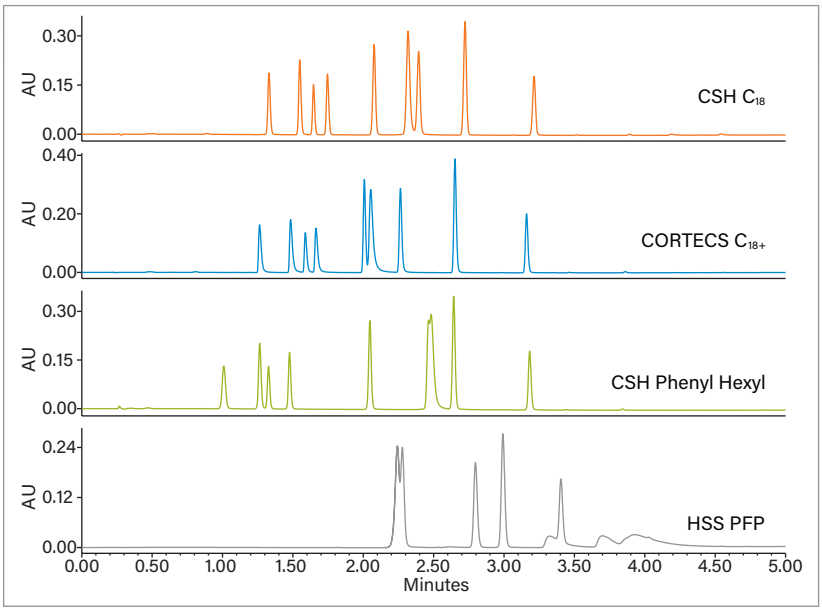


図 1. 分析法開発時のカラムスクリーニングにおけるメトクロプラミド及び USP 類縁物質の UV クロマトグラム(波長 270 nm)

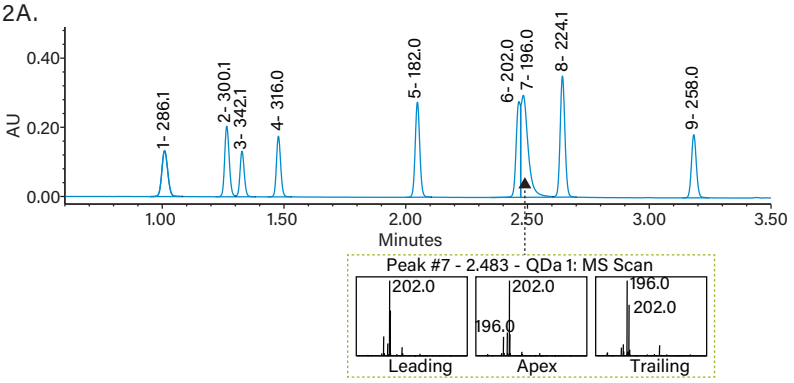
ソリューション

Empower MS ピークトラッキングでは、質量電荷比(*m/z*)を使用して各クロマトグラムにおける各ピークを自動的にトラッキングします。

この機能を用いたメトクロプラミドおよびその USP 類縁物質のUPLC分析法開発を行うため、体系的なスクリーニングプロトコールを使用しました[1]。プロトコールには、スカウティング、スクリーニング、および最適化の各ステップが含まれ、保持能および選択性というファクターに対して頑健で再現性のある分析法開発が可能です。

始めに、Empower 解析メソッドの割り当てられた質量のスペクトルについてマススペクトルを選択します。今回は、ピーク頂点のマススペクトル、およびその質量精度は小数点以下 1 桁を選択しています。この設定で、カラムスクリーニング時の UV クロマトグラムを処理しました(図 1)。Empower により、各クロマトグラムの各検出ピークについて、質量値が自動的に割り当てられます。共溶出の場合は、割り当てられた質量はマニュアルで修正およびコメントも入力できます。その例として、図 2A ではピーク 6 と 7 で部分的に共溶出が生じています。Empower の質量分析ウィンドウでは、ピーク 7 の立ち上がり、頂点、および立ち下がりのマススペクトルを容易に確認できます。図 2A に示されているように、*m/z* 202.0 と 196.0 の 2 つの質量があり、これらはそれぞれ USP Impurity C 及び H に固有の質量です。*m/z* 196.0 の強度はピーク 7 の立ち下がりで最も高く、Impurity H に対応していることを示しています。新しい値を追加し、変更についての注記を加えて、そのピークに手動で新しい質量を割り当てました（図 2B)。最後に、Empower レポートメソッドを使用してカラムスクリーニングの結果を表示しました。MS ピークトラッキングレポートに示されているように（図 3)、各カラムを用いた UV クロマトグラムの結果を割り当てられた質量毎の保持時間でサマリーすることができます。

2A.



2B.

	Retention Time (min)	Area (µV*sec)	Height (µV)	K Prime	USP Resolution	Base Peak (Combined) (m/z)	Base Peak (m/z)	Assigned Mass Value (m/z)	Notes
1	1.010	225012	132512	2.4		286.1	286.1	286.1	
2	1.265	267935	204128	3.2	6.4	300.1	300.1	300.1	
3	1.328	160351	131618	3.4	1.9	342.1	342.1	342.1	
4	1.477	214562	175722	3.9	4.6	316.0	316.0	316.0	
5	2.048	359538	275050	5.8	17.1	182.0	182.0	182.0	
6	2.465	328079	276975	7.2	4.3	202.0	202.0	202.0	
7	2.483	601446	295038	7.3	0.1	202.0	202.0	196.0	Coelution
8	2.644	476004	350283	7.8	2.2	224.1	224.1	224.1	
9	3.183	256330	182661	9.6	14.7	258.0	258.0	258.0	

図 2. Empower 3 ソフトウェア レビュー画面：2A- 分析法開発時のカラムスクリーニングから（UV 270 nm)。2B- ピークテーブル(ピーク 7に対しては、割り当てられた質量とコメントを表示)。

Report_MS Peak Tracking

Result Set Id: Result Set Id 1162
Channel Name: PDA 270nm

Retention Time Summarized by Assigned Mass

	SampleName	182.0 (min)	196.0 (min)	202.0 (min)	224.1 (min)	258.0 (min)	286.1 (min)	300.1 (min)	316.0 (min)	342.1 (min)
1	CSH C18, MeOH	2.078	2.319	2.394	2.724	3.214	1.331	1.549	1.746	1.647
2	Cortecs, MeOH	2.008	2.054	2.265	2.652	3.161	1.264	1.485	1.665	1.589
3	CSH PH, MeOH	2.048	2.483	2.465	2.644	3.183	1.010	1.265	1.477	1.328
4	HSS PFP, MeOH	2.279	2.243	2.798	2.993	3.405	3.324	4.030	3.699	3.926

図 3. カラムスクリーニングにおける MS ピークトラッキングの Empower 3 レポート。割り当てられた質量の各保持時間をサマリーテーブルとして表示できます。

まとめ

Empower 3 MS ピークトラッキングを利用することで、質量検出による各成分の保持時間を正確にトラッキングすることが可能になります。Empower は、分析法開発時の複数結果を迅速にレポート表示し、質量電荷比毎に各ピークの保持時間をサマリすることができます。種々の要因による各成分の選択性の変化を正確にトラッキングすることにより、分析法開発プロセス全体を効率化します。また、UV と MS を組み合わせることで、頑健で信頼性の高い分析法開発を実現し、ラボの全体的なスループットを向上します。

参考文献

1. Maziarz M., McCarthy S.M., Wrona M. Improving Effectiveness of Method Development for Metoclopramide HCl and Related Substances Using a Systematic Screening Protocol. Waters Application Note. 2014. 720005026EN.

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、Empower および The Science of W hat'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。

©2016 Waters Corporation. Produced in Japan. 2016年11月 720005721JA PDF