

医薬品の頑健な類縁物質試験法開発の効率化

藤崎 真一、周 毅婷

ユーザーベネフィット

- ◆ 医薬品主成分と類縁物質の分離度と、移動相組成やカラムオープン温度といった各種パラメーターとの関係を視覚化することで、分離が良好でかつ頑健性が確保される条件を効率的に探索できます。
- ◆ カラムロットごとに頑健なパラメーター領域を視覚化及び比較することで、ロット間差に対する頑健性評価を効率化できます。

はじめに

医薬品中の類縁物質は安全性確保のために厳格な管理が求められており、信頼性の高い分析法の開発が必要です。分析法開発支援ソフトウェアであるLabSolutions MDは、科学的な根拠とリスクを考慮し分析法を開発するAnalytical Quality by Design (AQbD) に基づいた、効率的な分析法開発を支援します。AQbDに基づいた分析法開発は、分析法の初期スクリーニング、最適化、頑健性評価というフェーズから成り立っています。本稿ではケトプロフェンの頑健な類縁物質試験法開発の効率化を目的とし、初期スクリーニングで選定されたカラム及び移動相に対して、最適化及び頑健性評価を適用した事例についてご紹介します。具体的には、移動相組成、カラムオープン温度、流量といった各種パラメーターを網羅的に変動させた際の各化合物の分離度を視覚化（デザインスペース）し、分析条件を最適化しました。また、最適化後の頑健性評価において、デザインスペースをロットの異なるカラムに適用し、各種パラメーターの変動が分離に与える影響を変動領域全体に渡って視覚化することで、カラムロット間差の頑健性評価を効率化しました。

■ 分析条件

ケトプロフェンと類縁物質の分離の最適化検討に用いた分析条件を表1に示します。分離に大きな影響を及ぼす移動相組成に加え、カラムオープン温度及び流量を変動させることで、ケトプロフェンと類縁物質の分離を網羅的に検討し、最適化しました。アセトニトリル比率を40%から60%まで5%刻みで（5水準）、カラムオープン温度を35℃から45℃まで5℃刻みで（3水準）、流量を0.6 mL/minから0.8 mL/minまで0.1 mL/min刻みで（3水準）変動させました。

表1 最適化検討条件

System : Nexera™ X3 (Method Scouting System)	
Mobile Phase :	
Pump A :	0.1% Formic acid in water
Pump B :	Acetonitrile
Column :	
Shim-pack™ Velox C18 (100 mm × 3.0 mm I.D., 2.7 μm)*1	
Analytical Conditions (Isocratic)	
B Conc. (Acetonitrile)	: 40, 45, 50, 55, 60% (5 patterns)
Column Temp.	: 35, 40, 45 °C (3 patterns)
Flow Rate	: 0.6, 0.7, 0.8 mL/min (3 patterns)
Injection Vol.	: 0.1 μL
Detection (PDA)	: 254 nm (SPD-M40, UHPLC cell)

*1 P/N: 227-32010-03

■ ケトプロフェンと類縁物質の分離

まず、アイソクラティック溶離時のアセトニトリル比率を60%及び40%に変化させた際のクロマトグラムを図1及び図2にそれぞれ示します（カラムオープン温度及び流量はそれぞれ40℃及び0.7 mL/min）。尚、クロマトグラム中のImp1~3は類縁物質であり、アセトニトリル比率が60%では、Imp2及びImp3がケトプロフェンのピークの裾野に溶出しました。一方で、40%では、それぞれのピークは相互に分離しており、移動相中のアセトニトリル比率は分離に顕著な影響を及ぼすことが示唆されました。引き続き、最適な分析条件を特定するために、アセトニトリル比率、カラムオープン温度、流量を網羅的に変動させた際のデザインスペースによる分離度の視覚化を実施しました。

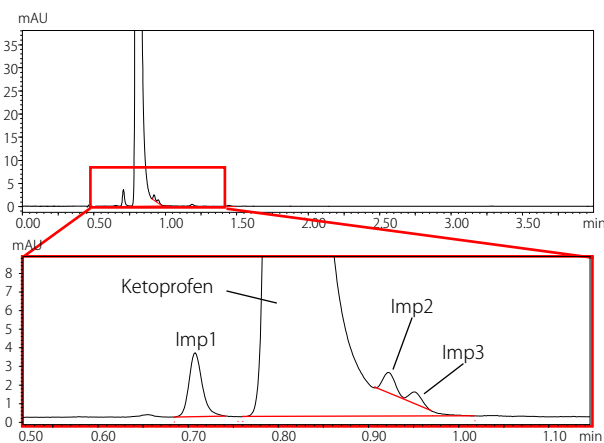


図1 B Conc. 60%、オープン温度 40 °C、流量 0.7 mL/minのクロマトグラム

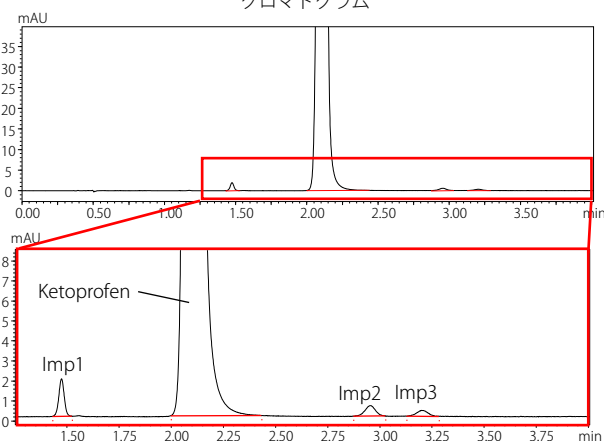


図2 B Conc. 40%、オープン温度 40 °C、流量 0.7 mL/minのクロマトグラム

■ デザインスペースによる分離度の視覚化

図3にケトプロフェンとImp2、及びImp2とImp3の分離度のデザインスペースを示しました。図中の赤色領域は分離度が大きく、青色領域は分離度が小さい領域を示します。LabSolutions MDは、各種パラメーターの変動領域全体の中で良好な分離と高い頑健性を有する条件を提示することが可能であり、ケトプロフェンとImp2、及びImp2とImp3の相互分離は、アセトニトリル比率40%、カラムオープン温度35℃、流量0.6 mL/minが最適な条件（図3内左下の青色点）であることがいずれにおいても示されました。デザインスペースにより、各種パラメーターの変動が分離度に及ぼす影響を容易に把握することができ、分析者の勘と経験に依存することなく科学的根拠に裏付けされた最適化を可能とします。

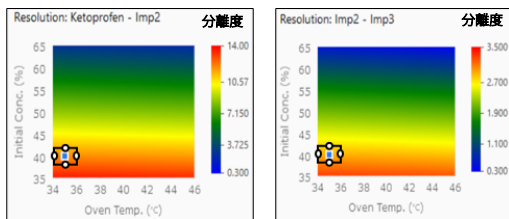


図3 ケトプロフェンとImp2の分離度のデザインスペース（左）
Imp2とImp3の分離度のデザインスペース（右）

*流量: 0.6 mL/min時 (LabSolutions MDが提示した最適値、
0.7、0.8 mL/min時のデザインスペースは省略)

*Initial Conc: アセトニトリル比率、*ロット1のカラムにて実施

■ 頑健性評価

ケトプロフェンと類縁物質の分離について、デザインスペースにより得られた最適な条件（アセトニトリル比率40%、カラムオープン温度35℃、流量0.6 mL/min）に対して頑健性評価を実施しました。具体的には、アセトニトリル比率を1%刻み（39%、40%、41%）で、カラムオープン温度を1℃刻み（34℃、35℃、36℃）で変動（図3内の青色点及び白丸4点の計5点）させ、分離に与える影響を検証しました。図4は、ケトプロフェンとImp2、及びImp2とImp3の分離度をそれぞれデザインスペースにより視覚化した結果であり、図中全体で分離度が大きい領域（橙色及び赤色）が分布しています。これは、アセトニトリル比率及びカラムオープン温度の変動領域全体に渡ってケトプロフェンとImp2、及びImp2とImp3の分離が十分確保できていることを意味しており、デザインスペースにより最適化された分析法の頑健性の高さが示されました。さらに、カラムロット間差の頑健性も評価するため、追加で2ロットのカラムに対して同様にデザインスペースを作成しました（図5、図6）。その際に得られたクロマトグラムを図7に示します。図4~図6において、図中全体で分離度が大きい領域が分布していることが分かり、カラムのロットに関わらず、最適化した条件の頑健性の高さが示されました。

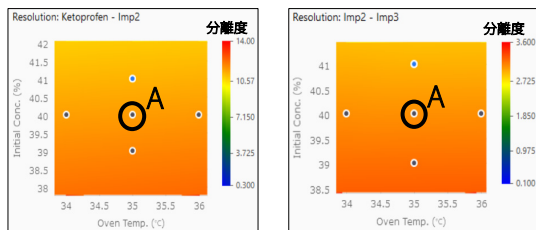


図4 ケトプロフェンとImp2の分離度のデザインスペース（左）
Imp2とImp3の分離度のデザインスペース（右）

*図中の丸印（計5点）は分析を実施した点（カラムロット1）

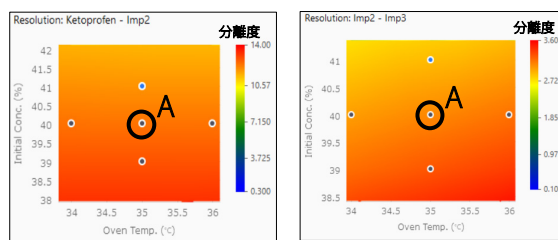


図5 ケトプロフェンとImp2の分離度のデザインスペース（左）
Imp2とImp3の分離度のデザインスペース（右）

*図中の丸印（計5点）は分析を実施した点（カラムロット2）

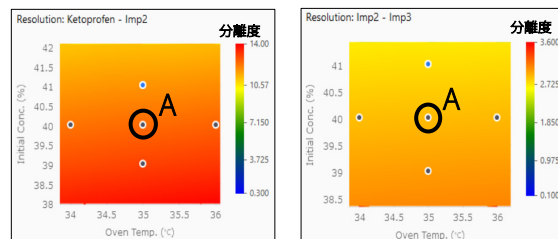


図6 ケトプロフェンとImp2の分離度のデザインスペース（左）
Imp2とImp3の分離度のデザインスペース（右）

*図中の丸印（計5点）は分析を実施した点（カラムロット3）

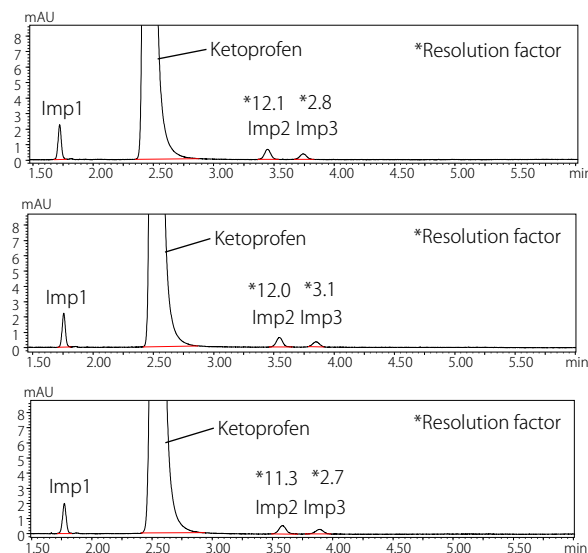


図7 ロットの異なるカラムで取得（図4~図6の点A）
したクロマトグラム

（上：ロット1、中：ロット2、下：ロット3）

■ まとめ

LabSolutions MDによる医薬品の類縁物質試験法開発の効率化事例についてご紹介しました。デザインスペースにより、各種パラメーターの変動に対する医薬品主成分と類縁物質の分離度を視覚化することで、勘と経験に依存することなく分析法の最適化及び頑健性評価を効率化します。また、デザインスペースをロットの異なるカラムの評価に適用することでカラムのロット間差の頑健性の評価を可能にします。本稿で紹介した類縁物質試験法開発の効率化プロセスは、分析法の信頼性の向上にもつながるため、分析法バリデーションの効率化にも貢献することが期待されます。

Nexera、LabSolutionsおよびShim-packは、株式会社島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

株式会社 島津製作所

分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

01-00335-JP 初版発行：2022年3月

島津コールセンター ☎ 0120-131691

本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。本文中では「TM」、「®」を明記していません。

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。

最新版は、島津製作所>分析計測機器の以下のサイトより閲覧できます。
<https://www.an.shimadzu.co.jp/apl/index.htm>

会員制情報サービス Shim-Solutions Clubにご登録いただけますと、毎月の最新情報をメールでご案内します。新規登録は、<https://solutions.shimadzu.co.jp/> よりお願いします。

© Shimadzu Corporation, 2022