

## LabSolutions MDを用いた医薬品中のイオン分析条件の最適化

井星 大雅

### ユーザーベネフィット

- ◆ ソフトウェアを用いて、簡単に各パラメータを網羅的に変動させ、効率的な分析法開発が可能です。
- ◆ 分離度や分析パラメータの関係性を視覚的に評価することができ、有効なパラメータ領域の把握が可能です。

### ■はじめに

カウンターイオンの違いにより、医薬品有効成分としての物理化学的・薬物動態的な性質が変わるため、医薬品開発段階では様々なカウンターイオンが検討され、最適な塩が選択されています。また、合成段階で使用する触媒やイオンなどの無機不純物の残存が製品の安全性、溶解性や安定性などに影響を及ぼすことがあり、不純物としてイオンを分析することも非常に重要です。

ここでは、医薬品のカウンターイオンとしてしばしば採用される有機酸のギ酸、酢酸、フマル酸、マレイン酸をイオン排除クロマトグラフィーを用いて分析した例を紹介します。今回、分析法開発支援ソフトウェアである、LabSolutions™ MDおよび、一体型高速液体クロマトグラフ LC-2050C 3Dを用いて、各種パラメータを網羅的に変動させた際の各成分の応答についてデザインスペースを描画することにより視覚化し、分析条件の最適化を行いました。

### ■分析条件

イオン排除モードでは成分の保持挙動はカラム温度と移動相中の酸濃度に依存します。また、分析条件によって、保持時間が大きく変動する成分もあり、分析対象を良好に分離可能な分析条件の検討が必要となります。

今回はLabSolutions MDを用いてギ酸、酢酸、フマル酸、マレイン酸の4成分を良好に分離できる分析条件を検討しました。各成分の分離検討に用いた分析条件を表1に示します。

分離に影響を及ぼす移動相中酸濃度に加え、カラムオープン温度を変動させることで有機酸4成分の分離を網羅的に検討しました。酸濃度を1~5 mmol/Lまで1 mmol/L刻みで、カラムオープン温度を30 °Cから50 °Cまで5 °C刻みで変動させました。

表1 分離検討条件

Mobile phase A	:Water
Mobile phase B	:10 mmol/L Perchloric acid
Column	: Shim-pack™ Fast-OA (100 mm × 7.8 mm I.D., 5 μm) <sup>*1</sup> × 2 : Shim-pack Fast-OA (G) (10 mm × 4.0 mm I.D., 5 μm) <sup>*2</sup>
B Conc.	: 10, 20, 30, 40, 50% (5 patterns)
Column Temp.	: 30, 35, 40, 45, 50 °C (5 patterns)
Flow rate	: 0.8 mL/min
Vial	: SHIMADZU LabTotal™ for LC 1.5 mL, Glass*3
Injection Vol.	: 10 μL
Detection	: PDA at 210 nm

\*1 P/N: S228-59942-41

\*2 P/N: S228-59942-42

\*3 P/N: 227-34001-01

### ■ピークの自動トラッキング

LabSolutions MDではパラメータを複合的に用いてピークを同定する機能があります。今回は、高さ%とピーク溶出順の2つのパラメータを成分毎に組み合わせることで、各ピークを同定し、ピークトラッキングを行いました(図1)。

フマル酸は酸濃度とカラムオープン温度によって、他ピークと比較し、保持時間が顕著に変動することがわかりました。今回は、溶出順が変わらないマレイン酸のみピーク高さ%と溶出順でフィルタをかけ、その他成分はピーク高さのみとすることにより、ピーク溶出順が入れ替わるフマル酸においても自動で各ピークを同定することができました。

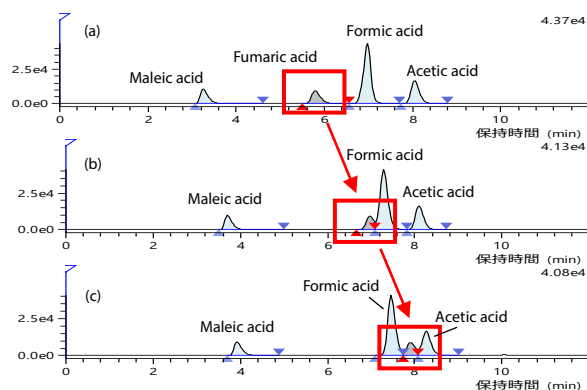


図1 各分析条件におけるクロマトグラム

a. Column Temp.: 50°C, B Conc.: 10%

b. Column Temp.: 50°C, B Conc.: 30%

c. Column Temp.: 35°C, B Conc.: 40%

### ■デザインスペースによる分離度の視覚化

LabSolutions MDはデザインスペースの描画ができ、分析条件と分離の関係を視覚化し評価することが可能です。同定された保持時間情報を基に、縦軸に移動相B濃度、横軸にカラムオープン温度をとり、高さ方向に各ピークの最小分離度を示したデザインスペースを作成しました(図2)。暖色の領域は高い応答・最小分離度であることを示しており、有効な分析条件を視覚的に判断できました。

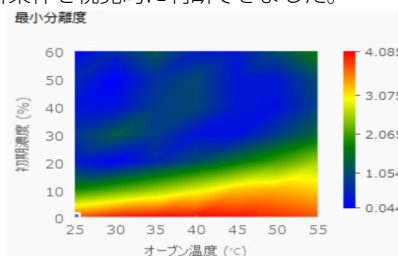


図2 パラメータと応答に関するデザインスペース

また、LabSolutions MDでは、特定の化合物に焦点を当てたデザインスペースを描画することも可能です。図3にギ酸と酢酸に関して分離度の下限値を1.5に設定した際のデザインスペースを示します。ギ酸に関しては左上に分離度1.5以上となる領域が確認されますが、酢酸では該当の領域において、他成分との分離が良好ではないことがわかります。この様に成分毎の分離・分析条件評価を行うことも可能です。更に2D等高線で分離度の重ね書きを行うことで、有効領域に関する複数視点での評価ができます。今回、分離度1.5以上を示す有効な領域と成分毎の関係を視覚的に確認することができました(図4)。

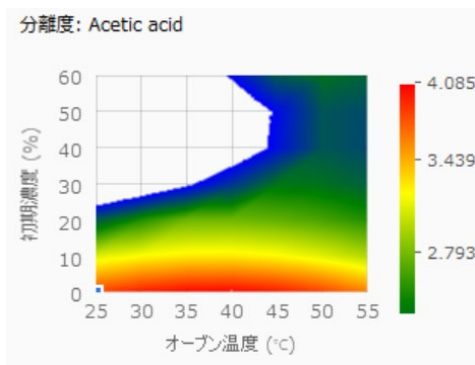
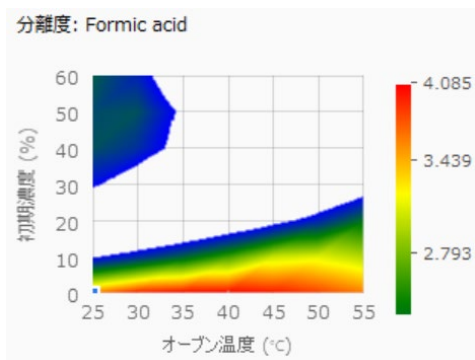


図3 各成分毎の分離度に関するデザインスペース

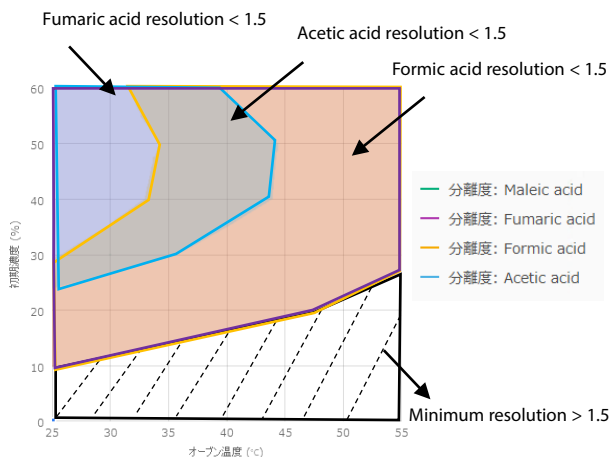


図4 2D等高線の重ね書き

## ■最適な分析条件の提案

LabSolutions MDはモデル解析結果に基づき、最適な条件を探索する機能を有しています。本機能を用いることで、各種分析パラメータの変動領域全体における良好な分離や高い頑健性を有する分析条件の提示が可能です。今回は最小分離度について最適な点を探索し、該当となるパラメータを確認しました(図5)。

提示された分析パラメータにおける予測クロマトグラムと実測クロマトグラムをそれぞれ図6に示します。各成分の分離および保持時間に大きな乖離がないことを確認しました。

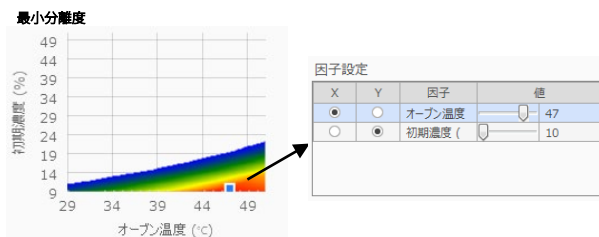


図5 提示された最適な分析パラメータ

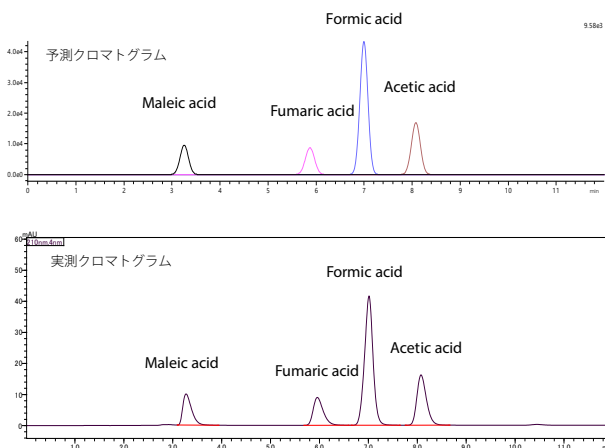


図6 予測クロマトグラムと実測クロマトグラム

## ■まとめ

有機酸4成分の分析条件検討をLabSolutions MDを用いて行いました。パラメータを複合的に用いることでピーク溶出順が入れ替わる成分についても自動でピーク同定ができました。また、デザインスペースを描画することで、各種パラメータの変動が分離度へ及ぼす影響を視覚的に把握することができ、最適な分析条件を確認することも可能です。そのため、分析者の経験や勘に依存することなく、科学的な根拠に基づいた分析条件の最適化が可能となります。

LabSolutions、Shim-packおよびSHIMADZU LabTotal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

01-00358-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」、「®」を明記していない場合があります。

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>  
会員情報サービス Shim-Solutions Clubにご登録いただきますと、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