

## オンラインSFE-SFC-QTOFMSを用いた シクレソニド吸入剤の迅速分析

合田隆大、飯田哲生

### ユーザーベネフィット

- ◆ オンラインSFE-SFC-QTOFMSを使用することで、医薬品不純物の迅速スクリーニングが可能です。
- ◆ サンプル前処理をほとんど行うことなく、さまざまな物性の不純物を一斉に分析可能です。

### ■はじめに

医薬品の品質維持には有効成分および不純物を確認することが不可欠であり、簡便かつ迅速なスクリーニング手法の確立は医薬品の開発期間短縮および実用化推進につながります。

オンラインSFE-SFC-QTOFMSは、超臨界流体抽出(Supercritical Fluid Extraction: SFE)と超臨界流体クロマトグラフィー(Supercritical Fluid Chromatography: SFC)を組み合わせて抽出容器から超臨界流体で抽出された成分をオンラインでSFCに導入してカラム分離を行い、さらに四重極飛行時間型質量分析計(Quadrupole-Time of flight: QTOF)で精密質量測定を行うシステムです。オンラインSFE-SFCでは超臨界流体二酸化炭素に極性有機溶媒をモディファイヤーとして添加することにより、幅広い極性をもつ成分の抽出および分離に応用することができます。

本報ではオンラインSFE-SFC-QTOFMSメソッドを用いて気管支喘息治療薬として用いられるシクレソニド吸入剤オルベスコに含まれる医薬品有効成分と不純物のスクリーニング分析を行った例をご紹介します。

### ■スクリーニング対象化合物とオンラインSFE-SFC-QTOFMSシステム

シクレソニド、ヨーロッパ薬局方(European Pharmacopoeia: EP)に記載されている関連不純物A、B、C、オルベスコの医薬品インタビューフォーム

(Pharmaceutical interview forms: IF)に記載されている関連不純物IF1、および容器に含まれる可能性のある不純物(Benzothiazole: BT、2-Mercaptobenzothiazole: MBT)の標準品を用いて混合標準試料を調製し、分析条件検討に用いました。図1に、シクレソニドと不純物の構造式を示します。

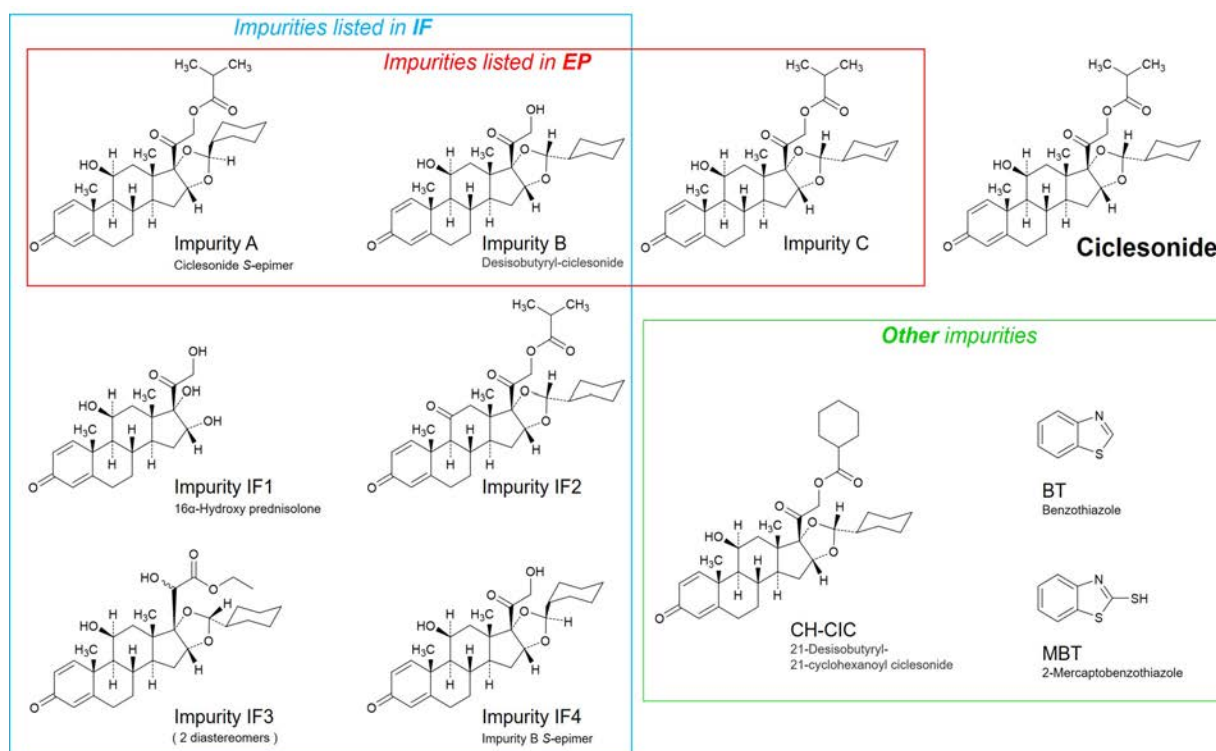


図1 シクレソニドおよび不純物の構造式

図2にオンラインSFE-SFC-QTOFMSシステムの構成を示します。抽出操作には、抽出容器に超臨界流体を導入後に通液をせず静置状態で抽出を行う静的抽出(Static extraction)と、抽出容器に通液を行い容器から抽出物を取り出す動的抽出(Dynamic extraction)があります。オンライン SFE-SFC-QTOFMSでは動的抽出時に分析カラムへ抽出物が導入され、グラジエント分離後にQTOFMSで精密質量測定が行われます。

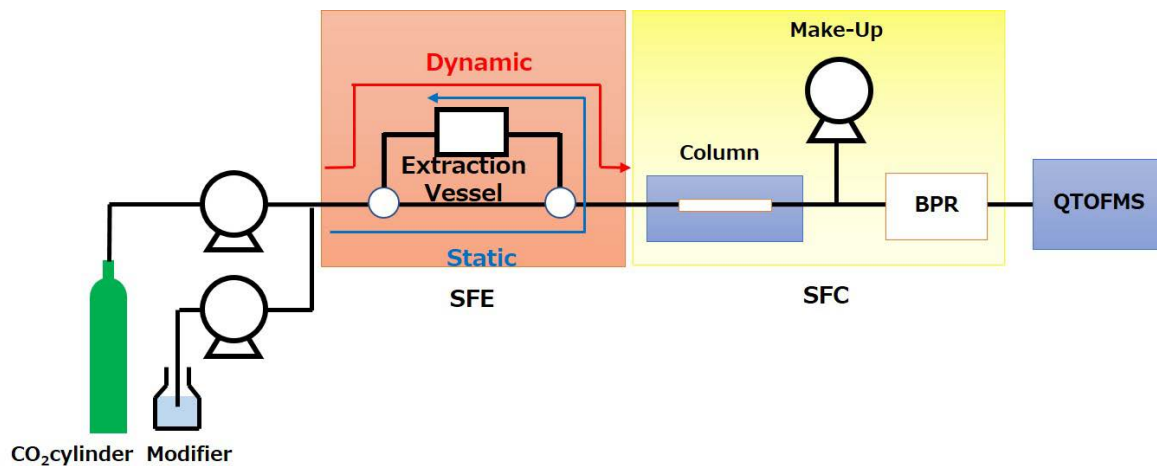


図2 オンライン SFE-SFC-QTOFMSシステム

表 1 SFE-SFC分析条件 (Nexera™ UC system)

|                  |   |
|------------------|---|
| [SFE]            |   |
| Solvent          | : A) CO <sub>2</sub><br>B) 10 mM Ammonium formate in methanol                                     |
| Flow Rate        | : 3 mL/min  |
| Extraction       | : 0-0.5 min Static mode (B. Conc. 10%)<br>0.5-3.5 min Dynamic mode (B. Conc. 10%)                 |
| Extraction temp. | : 60°C  |
| BPR pressure     | : 10 MPa  |
| Vessel Volume    | : 0.2 mL  |
| [SFC]            |   |
| Column           | : CHIRALPAK IE-3<br>(100 mm×3.0mmI.D., 3 mm)  |
| Mobile Phase     | : A) CO <sub>2</sub><br>B) 10 mM Ammonium formate in methanol                                     |
| Flow rate        | : 3 mL/min  |
| Gradient         | : 0.5% (3.5-4 min) → 25% (4.1 min) →<br>40% (6-8 min) → 100% (8.1-9.5 min) →<br>0.5% (9.5-10 min) |
| BPR pressure     | : 10 MPa  |
| Column temp.     | : 40 °C   |

表 2 MS分析条件 (LCMS-9030)

|                     |                            |
|---------------------|----------------------------|
| Ionization          | : ESI (Positive scan mode) |
| Make-up             | : Methanol                 |
| Make-up Flow rate   | : 0.1 mL/min               |
| Nebulizing gas flow | : 3.0 L/min                |
| Heating gas Flow    | : 10 L/min                 |
| Drying Gas Flow     | : 10 L/min                 |
| Interface Temp.     | : 300°C                    |
| DL temp.            | : 250°C                    |
| Block heater temp.  | : 400°C                    |
| Scan Range          | : <i>m/z</i> 100-1000      |

## ■ カラムスカウティングによるSFC分離条件検討

混合標準試料を用いてカラムスカウティングによるSFC分離条件の検討を行いました。カラムスカウティングではShim-pack™ UC (Diol, RP, Sil, NH<sub>2</sub>, CN, Phenyl, Amide, GIS II)および株式会社ダイセル製キラル分析用SFCカラム CHIRALPAK (AD-3, OX-3, AY-3, OD-3, OJ-3, OZ-3, IA-3, IB-3, IC-3, ID-3, IE-3, IF-3)の計20本を評価しました。

代表的な4本のカラムを用いた抽出イオンクロマトグラムを図3に示します。固定相にAmylose tris (3, 5-dichlorophenylcarbamate)を有するCHIRALPAK IE-3がシクロレソノドと不純物群の分離に最も適していると判断され、十分な分離効果と良好なピーク形状を示しました。

## ■ オンラインSFE-SFC-QTOFMS分析

混合標準試料を滴下したガラスディスクを抽出容器に封入して表1および表2に示した分析条件に従いオンラインSFE-SFC-QTOFMSにて測定しました。試料の調製は簡便で、10分間で全7化合物の抽出、SFC分離および精密質量測定を行うことができます。図4に、混合標準試料の抽出イオンクロマトグラムを示します。

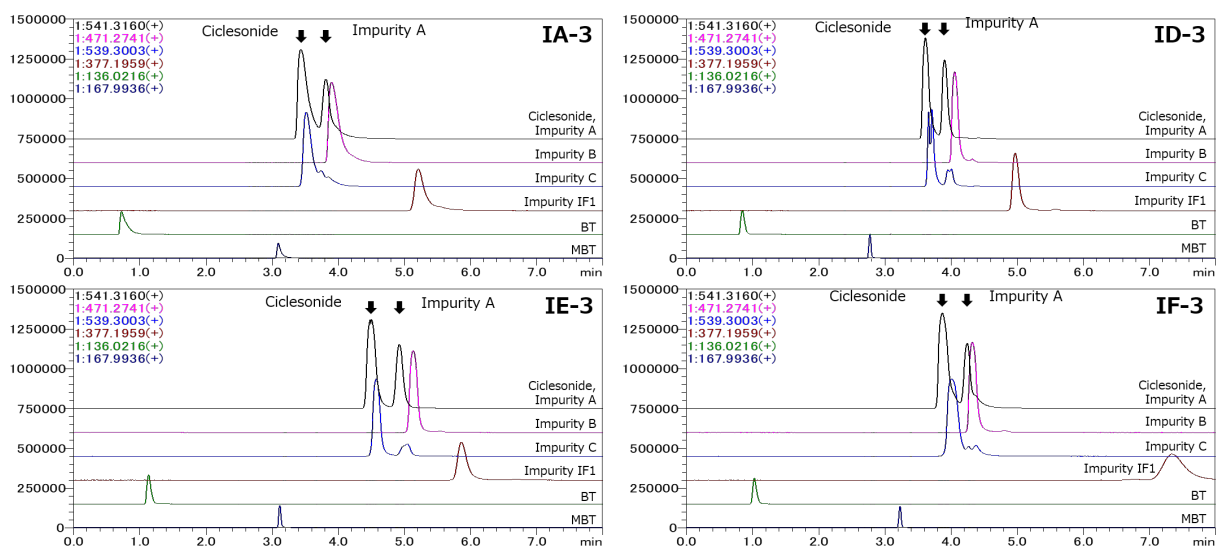


図3 代表的なカラムによるSFC分離の例

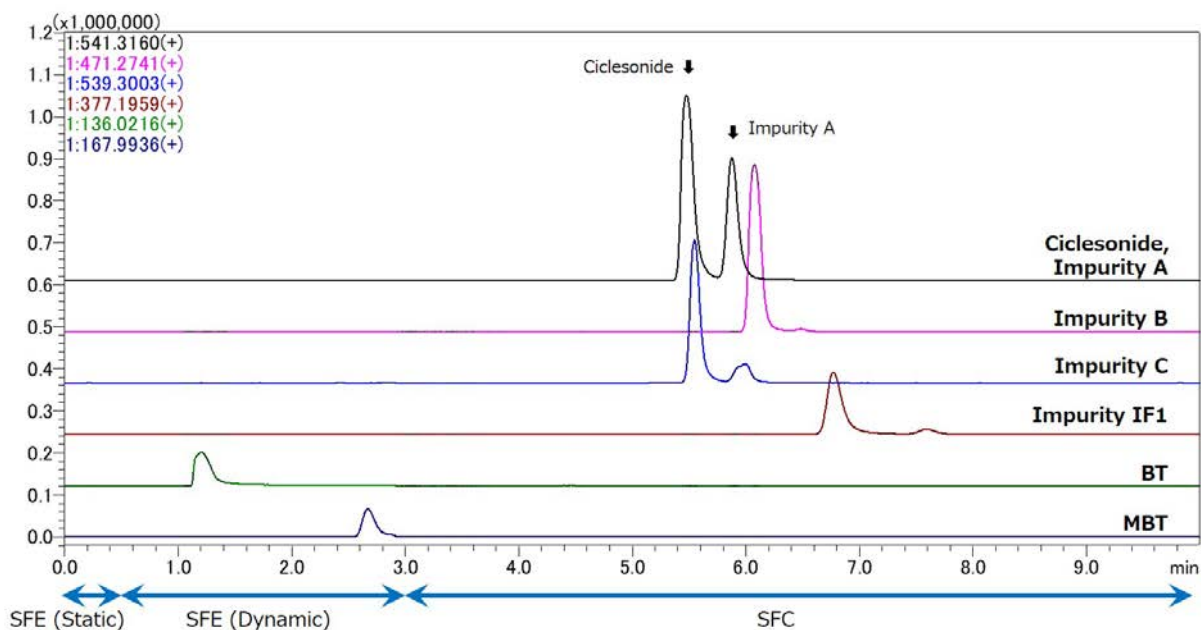


図4 混合標準試料の抽出イオンクロマトグラム

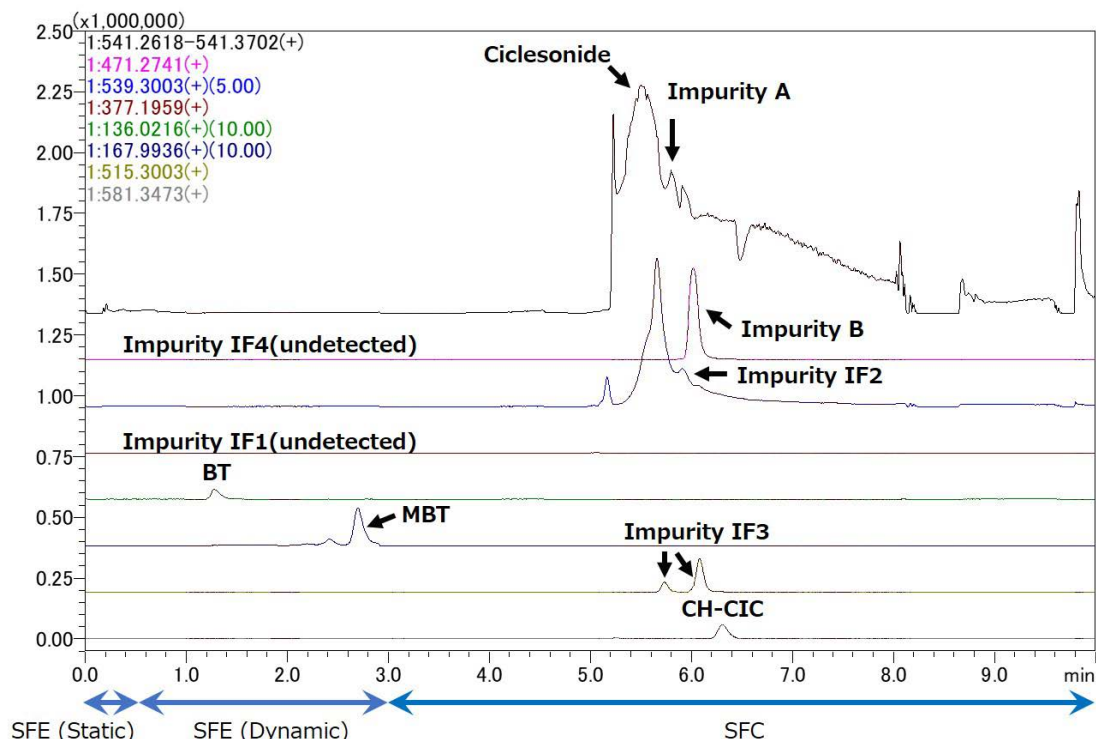


図5 オルベスコの抽出イオンクロマトグラム

表3 オンラインSFE-SFC-QTOFMSを用いてオルベスコから検出された化合物

| Compound                       | Formula and Theoretical $m/z$ ( $[M+H]^+$ ) | Observed $m/z$ | Error (mDa) | RT (min) | Listed in |    |
|--------------------------------|---|----------------|-------------|----------|-----------|----|
|                                |   |                |             |          | EP        | IF |
| Ciclesonide                    | $C_{32}H_{44}O_7$ , $m/z$ 541.3160          | 541.3159       | -0.1        | 5.48     | ✓         | ✓  |
| Impurity A                     | $C_{32}H_{44}O_7$ , $m/z$ 541.3160          | 541.3158       | -0.2        | 5.87     | ✓         | ✓  |
| Impurity B                     | $C_{28}H_{38}O_6$ , $m/z$ 471.2741          | 471.2735       | -0.6        | 6.06     | ✓         | ✓  |
| Impurity C                     | $C_{32}H_{42}O_7$ , $m/z$ 539.3003          | 539.2993       | -1.0        | 5.54     | ✓         |    |
| Impurity IF2                   | $C_{32}H_{42}O_7$ , $m/z$ 539.3003          | 539.2995       | -0.8        | 5.96     |           | ✓  |
| Impurity IF3 (2 diastereomers) | $C_{30}H_{42}O_7$ , $m/z$ 515.3003          | 515.2998       | -0.5        | 5.74     |           | ✓  |
|                                |   | 515.3000       | -0.3        | 6.08     |           | ✓  |
| CH-CIC                         | $C_{35}H_{48}O_7$ , $m/z$ 581.3473          | 581.3463       | -1.0        | 6.33     |           |    |
| BT                             | $C_7H_5NS$ , $m/z$ 136.0216                 | 136.0211       | -0.5        | 1.27     |           |    |
| MBT                            | $C_7H_5NS_2$ , $m/z$ 167.9936               | 167.9932       | -0.4        | 2.70     |           |    |

オルベスコをガラスディスク上に1回噴霧した試料を抽出容器に封入し、オンラインSFE-SFC-QTOFMSにて測定しました。

オルベスコ関連化合物の抽出イオンクロマトグラムを図5に、検出されたピークの精密質量を表3に示します。シクレソニド、不純物A、不純物B、不純物C、BT、およびMBTは、それぞれの混合標準試料の保持時間と精密質量から同定しました。混合標準試料に含まれないImpurity IF2、Impurity IF3 (ジアステレオマーと推定される2ピーク)およびCH-CICについては精密質量から同定しました。不純物IF1と不純物IF4は検出されませんでした。

## ■まとめ

オンラインSFE-SFC-QTOFMSシステムを用いて医薬品製剤オルベスコの医薬品有効成分および不純物を簡便かつ迅速にスクリーニングする手法を確立しました。この手法により新規医薬品開発における不純物プロファイリングに貢献できることが期待されます。

なお本研究は、国立医薬品食品衛生研究所との共同研究により実施されたものです。

[Ref] Tanaka S., et al., J. Pharm. Biomed. Anal. 204, 114253 (2021), doi.org/10.1016/j.jpba.2021.114253

LCMS, Nexera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

01-00362-JP 初版発行：2022年6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

▶ アンケート

**関連製品** 一部の製品は新しいモデルにアップデートされている場合があります。



▶ LCMS-9030

四重極飛行時間型質量分析計

## 関連分野

▶ 低分子医薬品

▶ バイオ医薬品

▶ 価格お問い合わせ

▶ 製品お問い合わせ

▶ 技術お問い合わせ

▶ その他お問い合わせ