

Application News

シングル四重極LC/MSによるピークトラッキングを用いた医薬品の類縁物質試験法開発の効率化

藤崎 真一、日光 政隆

ユーザーベネフィット

- ◆ シングル四重極質量分析計LCMS™-2050を用いたピークトラッキングにより、UVスペクトルが類似している医薬品の類縁物質の正確な同定が可能となり、信頼性の高い分析法開発を実現します。
- ◆ LabSolutions MDにより、良好な分離と分析時間の短縮を両立したLC条件の探索を効率化できます。

■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、頑健性評価から成り立っています。本稿では医薬品であるモンテルカストをモデル化合物とした類縁物質試験法開発の効率化を目的とし、分析法の最適化を実施した事例をご紹介します。具体的には、各種パラメータを網羅的に変動させた際のモンテルカストと類縁物質の分離度を視覚化（デザインスペース）し、条件の最適化を実施しました。フォトダイオードアレイ（PDA）検出器では類似したUVスペクトルを有する類縁物質の正確なピークトラッキングは困難でしたが、LCMS-2050の活用でこの課題を解決できます。さらに、分離度の確保に加え、分析時間（最終ピーク保持時間）を考慮したデザインスペースの描画により、良好な分離と分析時間の短縮を同時に実現するLC条件の探索を効率化しました。

■分析条件

本稿では、図1中のモンテルカストと類縁物質（Imp1~6）を対象とし、グラジエント溶離を用いて分離の最適化検討を実施しました（分析条件：表1）。グラジエント終濃度及びグラジエントスロープを変動させ、モンテルカストと類縁物質の分離を網羅的に検討しました。具体的には、Pump Bのグラジエント終濃度を75%から85%まで5%刻みで（3水準）、グラジエントスロープを8分から18分まで5分刻みで（3水準）変動させました。

表1 最適化検討条件

[LC conditions] Nexera™ X3 (Method Scouting System)

Mobile phase:

Pump A : 0.15% formic acid in water

Pump B : 0.1% formic acid in acetonitrile

Column:

Shim-pack™ Scepter Phenyl-I20 (100 mm × 3.0 mm I.D., 1.9 μm)*1

Analytical conditions

Initial B Conc. : 45%

Final B Conc. : 75, 80, 85% (3 patterns)

Gradient slope : 8, 13, 18 min (3 patterns)

Time program : B Conc. 45%(0-3 min)→75%(11 min)
→85%(11.01-13 min)→45%(13.01-18 min)

*If final B Conc. is 75%, gradient slope is 8 min

Column Temp. : 30 °C

Flow rate : 0.5 mL/min

Injection Vol. : 10 μL (1000 mg/L)

Detection (PDA) : 238 nm (SPD-M40, UHPLC cell)

[MS conditions] LCMS-2050

Ionization : ESI/APCI (DUIS™), positive and negative mode
Mode : SCAN (m/z 400-800)
Nebulizing gas flow : 2.0 L/min
Drying gas flow : 5.0 L/min
Heating gas flow : 7.0 L/min
DL Temp. : 200 °C
Desolvation Temp. : 450 °C
Interface voltage : +3.0 kV / -2.0 kV
Qarray voltage : +20 V

■類縁物質ピークのMSトラッキング

グラジエント終濃度が80%、グラジエントスロープが8分及び18分の条件で得られたLCクロマトグラム及び各類縁物質（Imp1~6）の質量情報を図1に、また、Imp1~6のUVスペクトルを図2に示します。Imp1とImp6（類似度0.99以上）、Imp2とImp4（類似度0.9以上）、Imp3とImp5（類似度0.999以上）はUVスペクトルが類似しているため、UVスペクトルによるピークトラッキングが困難なことが示唆されています。一方、LabSolutions MDは、LCMS-2050の質量情報に基づいたピークトラッキングが可能であるため、UVスペクトルが類似している類縁物質に対しても、正確な同定を可能とします（図1）。

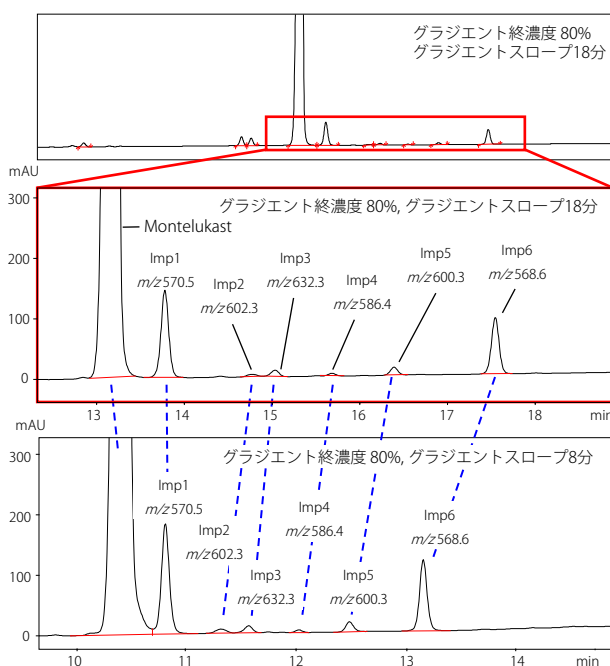


図1 グラジエント終濃度80%、グラジエントスロープ8分（下）及び18分（上）のLCクロマトグラム

*点線は質量情報による類縁物質のトラッキングを示す

*図中のImp1~6は日本薬局方記載の類縁物質とは異なる

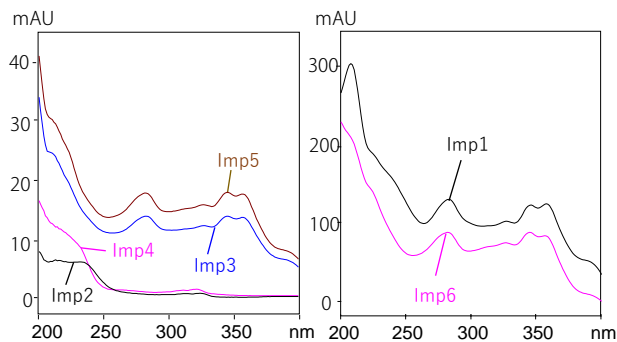


図2 モンテルカストの類縁物質 (Imp1~6) のUVスペクトル

次に、最適分析条件の特定に向けて、グラジエント終濃度及びグラジエントスロープを網羅的に変動させた際のモンテルカストと類縁物質の分離度をデザインスペースにより視覚化しました。

■ デザインスペースによる最適分析条件探索

モンテルカストとその近傍に溶出するImp1の分離度のデザインスペースを図3に示しました。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。デザインスペースの描画により、グラジエント終濃度が小さく、かつ、グラジエントスロープが長いほど、良好な分離が得られることが示唆されました。

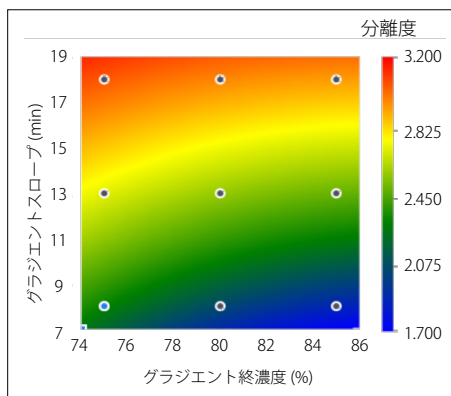


図3 モンテルカストとImp1の分離度のデザインスペース

LabSolutions MDIは、複数のデザインスペースの重ね書きが可能のため、最適分析条件探索の更なる効率化を実現します。一例として、モンテルカストとImp1の分離度が2.6以上、各化合物間の最小分離度が1.2以上、さらに、最終ピーク (Imp6) の保持時間が17分以下をクライテリアとし、これらを満たす条件領域をデザインスペースの重ね書きにより図4に示します。図4の緑線内の領域は最小分離度が1.2未満の領域、青線内はモンテルカストとImp1の分離度が2.6未満の領域、ピンク線内は最終ピークの保持時間が17分より長い領域を表しており、これら以外の領域 (黒線ハッチング) がクライテリアを満たす条件領域となります。クライテリアを満たす条件領域の中でも、分析時間が最も短くなる最適なグラジエントスロープは、赤丸内の点A付近となります。このように、分離度に加えて、分析時間も考慮したデザインスペースにより、良好な分離と分析時間の短縮を同時に実現する条件を効率的に探索することが可能です。

デザインスペースの活用により、各種パラメーターの変動が分離度や保持時間といった応答に及ぼす影響を網羅的に把握することができ、分析者の勤と経験に依存しない、科学的根拠に裏付けされた最適化が可能です。

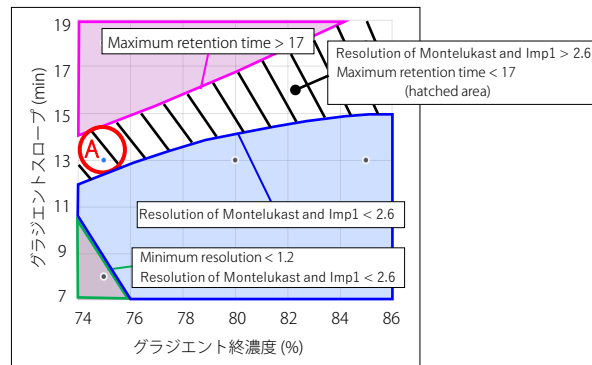


図4 分離度と最終ピーク保持時間のデザインスペースの重ね書き

■ 最適分析条件でのクロマトグラム

デザインスペースにより探索された最適分析条件 (点A) でのクロマトグラムを図5に示します。モンテルカストとImp1の分離度が2.7、類縁物質相互間の最小分離度はImp3の1.4、この際の最終ピーク保持時間が17分以内となっており、クライテリアを満たす良好な分離及び、分析時間の短縮化を同時に実現することができました。

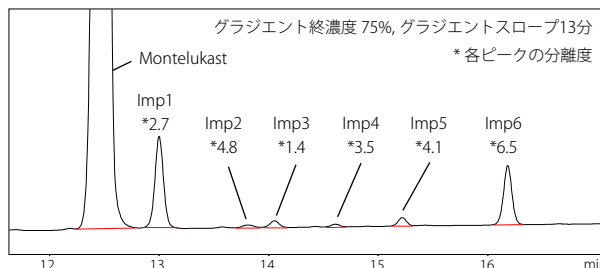


図5 最適化された分析条件でのLCクロマトグラム
グラジエント終濃度 75%, グラジエントスロープ13分

■ まとめ

LabSolutions MD及びLCMS-2050によるモンテルカスト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。質量情報を活用することで、UVスペクトルだけではピークトラッキングが難しい類縁物質であっても、正確かつ簡便なピーク同定を実現することができます。また、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分離度を視覚化し、最終ピークの保持時間も重ね書きすることで、良好な分離と分析時間の短縮を両立した最適分析条件の設定が可能です。このように、LabSolutions MDを活用することで、勤と経験に依存しない効率的な分析法開発の実現に貢献します。

LabSolutions、LCMS、Nexera、Shim-packおよびDUI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

01-00443-JP 初版発行：2022年 9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>

会員制情報サービス Shim-Solutions Club に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