

本資料は AlphaMOS (フランス) にて分析した結果に基づくものです。

目的

医薬品は、製造中に使用、あるいは生成される溶媒がわずかながら残留することがあります。実用的な製造技術では、残留溶媒を完全に除去することはできません。医薬品中のそれらの含量は評価されるべきで、製剤は安全性データによって支持される以上の残留溶媒が含まれてはなりません。一般的な溶媒は毒性レベルに基づいて3つのクラスに分類されます。

| | |
|-------|---|
| クラス 1 | 使用を避けるべき溶媒 ヒトの発がん性物質と知られているもの ヒトの発がん性物質として強く疑われるもの 環境に対して有害なもの |
| クラス 2 | 規制すべき溶媒 動物の非遺伝毒性発がん物質、あるいは神経毒性や奇形発生のような不可逆的毒性の原因と成り得る化学物質 他の重大な可逆的毒性が疑われる溶媒 |
| クラス 3 | 毒性が低い溶媒 ヒトに対する毒性が低い溶媒；健康に基づく暴露限度が定められていない |

米国の FDA など幾つかの保健機関は、各溶媒の濃度限度値を公表しています。

本資料では、医薬品産業において主に使用される13種類の溶媒について、フラッシュ GC ノーズ HERACLES II を用いた迅速な検出と濃度の定量方法を提案します。



装置

フラッシュ GC ノーズ HERACLES II

超高速GC技術を基盤としたフラッシュGCノーズ HERACLES II (図1) には、極性の異なる2種類のメタルキャピラリーカラムが並行に配置され(本研究では、微極性のMXT-5 と低/中極性のMXT-1701、長さ10m、内径180 μ m を使用)、各々に水素炎イオン化検出器 (FID) が接続されています。同

時に2つのクロマトグラムが得られるため、保持指標データによる化合物検索の際、より明確な絞り込みが可能となります。分析はヘッドスペースと液体注入の双方の注入モードに対応しています。

また、ペルチェ式クーラー (0 - 260 $^{\circ}$ C) により温度制御された固相吸着トラップが内蔵されているため、低分子の揮発性化合物の効果的なプレ濃縮を実現し、優れた感度 (pg オーダー) を得ることができます。カラムの高速昇温 (最大600 $^{\circ}$ C/min) により、2~3分程度で測定結果が得られ、分析サイクルもわずか5~9分です。



図1: フラッシュ GC ノーズ HERACLES II

装置本体には、サンプリングと注入の自動化のためにオートサンプラ (RSI) が据え付けられています。操作はソフトウェアAlphaSoft を介して行います。AlphaSoft は、クロマトグラフィー機能に加え、サンプルのフィンガープリント分析や比較、定量・定性モデルや品質管理チャートの構築など、データを視覚化するための様々な多変量解析ツールも備えています。

AroChembase:

化合物のプレスクリーニングと官能的特徴づけのための保持指標&においライブラリ

本システムには、保持指標&においライブラリ AroChemBase が付属しています。ライブラリには、化合物ごとの名称、分子式、CAS 番号、分子量、保持指標といった化学情報に加え、官能記述子や閾値情報、そして関連する文献情報まで含まれています。AroChemBase によって、HERACLES II のクロマトグラムから化合物の予備スクリーニングを行うことができます。

デュアルカラム高速 GC による医薬品の残留溶媒の迅速な検出

サンプルと分析条件

13 種類の溶媒を含む標準溶液は、n-ヘキサデカンで希釈して調製しました (表 1)。5 種類の濃度水準を得るために、標準溶液 1µl から 5µl を 1g のアセトアミノフェンに添加し、試験用の試料としました (表 2)。フラッシュ GC ノーズ HERACLES II を用いて

調製した試料のヘッドスペースを分析し (表 3)、さらに保持指標を算出するためにアルカンの標準混合液 (n-ヘキサンから n-ヘキサデカンまで) を測定しました。

表 1: 残留溶媒リスト

| 溶媒 | CAS 番号 | メーカー | クラス | 混合液番号 | 濃度(g/L) |
|----------------|----------|-------------------|-----|-------|---------|
| メタノール | 67-56-1 | Aldrich | 2 | 1 | 11.07 |
| エタノール | 64-17-5 | Fluka | 3 | 1 | 10.02 |
| アセトン | 67-64-1 | Fluka | 3 | 1 | 17.90 |
| イソプロパノール | 67-63-0 | Merck | 3 | 1 | 10.47 |
| ジクロロメタン | 75-09-2 | Fisher Scientific | 2 | 2 | 9.80 |
| n-ヘキサン | 110-54-3 | Fluka | 2 | 2 | 8.59 |
| 酢酸エチル | 141-78-6 | Aldrich | 3 | 2 | 12.03 |
| テトラヒドロフラン | 109-99-9 | Sigma | 2 | 2 | 8.43 |
| シクロヘキサン | 110-82-7 | Fluka | 2 | 2 | 11.23 |
| トルエン | 108-88-3 | Fluka | 2 | 3 | 3.06 |
| トリエチルアミン | 121-44-8 | Acros | - | 3 | 2.50 |
| ベンゼン | 71-43-2 | Fluka | 1 | 3 | 3.87 |
| N,N-ジメチルホルムアミド | 68-12-2 | Fluka | 2 | 3 | 3.76 |

表 3: 残留溶媒分析用に最適化した分析パラメータ

| パラメータ | 設定値 |
|-------------|--|
| サンプル量 | 1 g / 20mL バイアル |
| インキュベーション条件 | 40°C、20 分 |
| 注入量 | 1 mL |
| 注入速度 | 125 µL/秒 |
| トラップ吸着温度 | 40°C |
| スプリット | 10 mL/分 |
| トラップ脱離温度 | 240°C |
| カラム圧 | 60 kPa (2 秒) - 90kPa @ 0.25 kPa/秒 |
| カラム温度プログラム | 40°C (2 秒) 40 - 80°C @ 0.5°C/秒 80 - 250°C @ 4°C/秒 250°C (6 秒) |
| データ取得時間 | 130 秒 |
| 検出器温度 | 270°C |

表 2: 検量線に使用したアセトアミノフェン試料中の溶媒濃度 (µg/g)

| 溶媒 | 水準 1 | 水準 2 | 水準 3 | 水準 4 | 水準 5 |
|----------------|------|------|------|------|------|
| メタノール | 11.1 | 22.1 | 33.2 | 44.3 | 55.4 |
| エタノール | 10.0 | 20.0 | 30.1 | 40.1 | 50.1 |
| アセトン | 17.9 | 35.8 | 53.7 | 71.6 | 89.5 |
| イソプロパノール | 10.5 | 20.9 | 31.4 | 41.9 | 52.4 |
| ジクロロメタン | 9.80 | 19.6 | 29.4 | 39.2 | 49.0 |
| n-ヘキサン | 8.6 | 17.2 | 25.8 | 34.4 | 43.0 |
| 酢酸エチル | 12.0 | 24.1 | 36.1 | 48.1 | 60.2 |
| テトラヒドロフラン | 8.4 | 16.9 | 25.3 | 33.7 | 42.2 |
| シクロヘキサン | 11.2 | 22.5 | 33.7 | 44.9 | 56.2 |
| トルエン | 3.1 | 6.1 | 9.2 | 12.2 | 15.3 |
| トリエチルアミン | 2.5 | 5.0 | 7.5 | 10.0 | 12.5 |
| ベンゼン | 3.9 | 7.7 | 11.6 | 15.5 | 19.4 |
| N,N-ジメチルホルムアミド | 3.8 | 7.5 | 11.3 | 15.0 | 18.8 |

デュアルカラム高速 GC による医薬品の残留溶媒の迅速な検出

クロマトグラム

各溶媒が良好に分離されました (図 2)。MXT-5 カラムではアセトンとイソプロパノール、シクロヘキサンとベンゼンが共溶出していましたが、MXT-1701 カラムでは分離されました。

一方、MXT-1701 カラムでは、イソプロパノールとベンゼンが共溶出しましたが、MXT-5 カラムでは分離されました。表 4 に 2 種類のカラムで分離された各溶媒の保持時間と保持指標を示します。

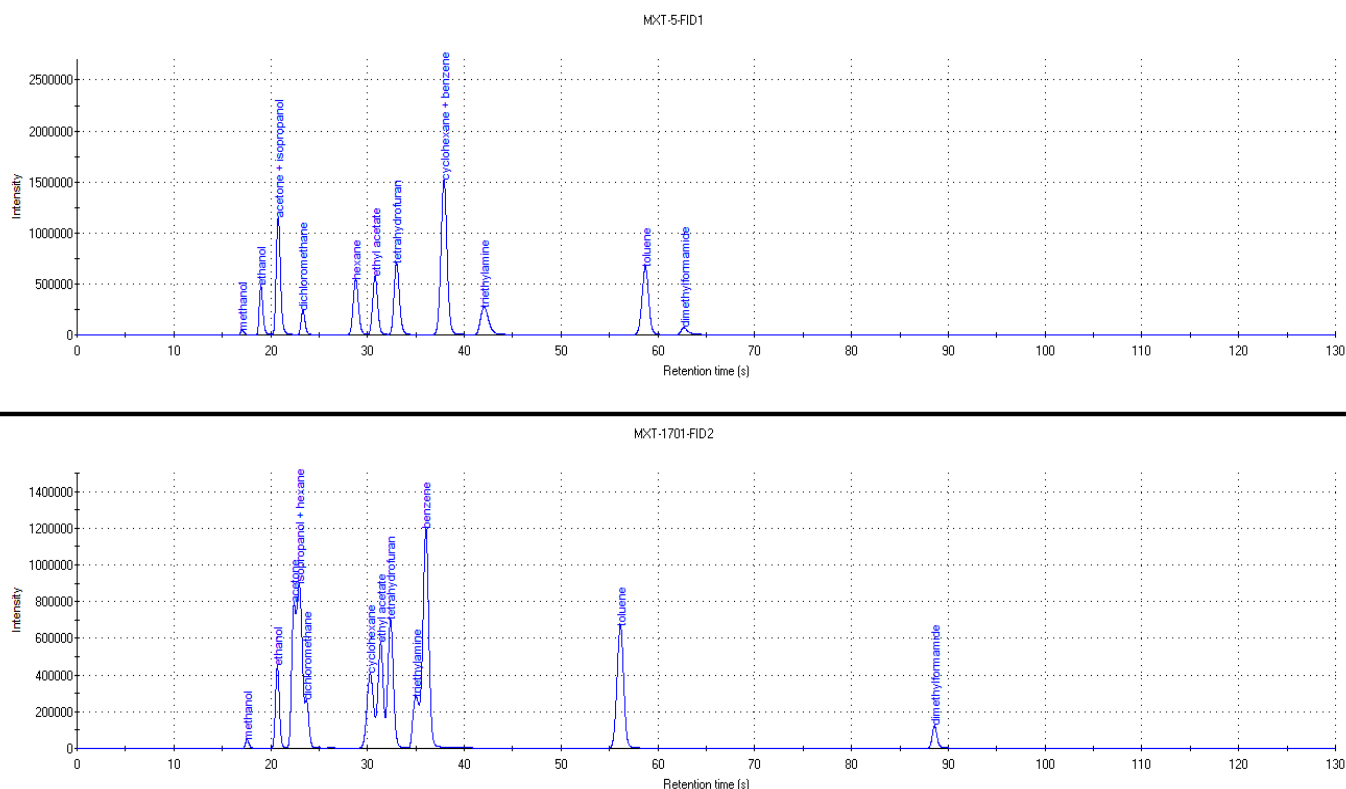


図 2 : HERACLES II によって得られた溶媒混合物のクロマトグラム

表 4: 各溶媒の保持時間と保持指標 (RT : 保持時間、RI : 保持指標、太字は共溶出していることを示す)

| RT MXT-5 (±0.1 秒) | RT MXT-1701 (±0.1 秒) | RI MXT-5 (±20) | RI MXT-5 (±20) | 化合物名 |
|----------------------|-------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 17.1 | 17.6 | 433 | 500 | メタノール |
| 19.0 | 20.7 | 467 | 560 | エタノール |
| 20.8 | 22.4 | 498 | 596 | アセトン |
| 20.8 | 22.9 | 498 | 603 | イソプロパノール |
| 23.3 | 23.7 | 533 | 610 | ジクロロメタン |
| 28.8 | 22.9 | 601 | 603 | n - ヘキサン |
| 30.8 | 31.4 | 614 | 681 | 酢酸エチル |
| 33.0 | 32.4 | 632 | 693 | テトラヒドロフラン |
| 37.9 | 30.3 | 666 | 674 | シクロヘキサン |
| 37.9 | 30.3 | 666 | 717 | ベンゼン |
| 42.1 | 35.0 | 691 | 709 | トリエチルアミン |
| 58.7 | 56.1 | 775 | 827 | トルエン |
| 62.7 | 88.6 | 790 | 963 | N, N - ジメチルホルムアミド |

デュアルカラム高速 GC による医薬品の残留溶媒の迅速な検出

定量分析用の検量線

各溶媒の定量のために検量線を作成しました（図 3、図 4）。全ての検量線の決定係数 R^2 が 0.99 以上と良好な直線性を示しました。

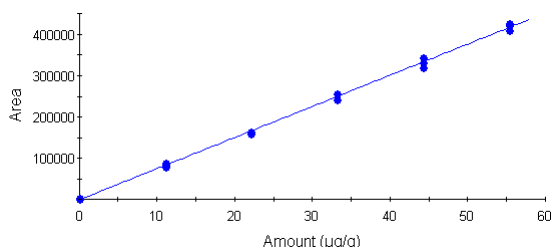


図 3: MXT-5 カラムにおけるアセトアミノフェン中のアセトン定量用の検量線 ($R^2=0.998$)

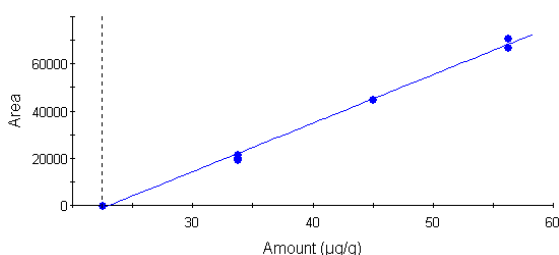


図 4: MXT-5 カラムにおけるアセトアミノフェン中の N, N-ジメチルホルムアミド定量用の検量線 ($R^2=0.996$)

定量限界

各溶媒の定量限界は、検量線作成に用いた最小濃度の標準試料のクロマトグラムから推定しました。

表 5 は、HERACLES II による分析の定量限界と欧州薬局方¹と米国薬局方²によって認定された薬剤中の濃度限度値を比較したものです。いずれの溶媒に関しても、規制されている上限濃度をはるかに下回る濃度で定量できることが確認されました。

表 5: 13 種の残留溶媒に関する欧州および米国薬局方による推奨濃度限度値と HERACLES II の定量限界の比較

| 溶媒 | 認定されている濃度限度値 (ppm) | 定量限界 (µg/g) |
|----------------|--------------------|-------------|
| アセトン | 5000 | < 0.1 |
| ベンゼン | 2 | < 0.01 |
| シクロヘキサン | 3880 | < 0.1 |
| ジクロロメタン | 600 | < 0.1 |
| エタノール | 5000 | < 0.1 |
| 酢酸エチル | 5000 | < 0.1 |
| イソプロパノール | 5000 | < 0.1 |
| メタノール | 3000 | 0.1 |
| N,N ジメチルホルムアミド | 880 | 30 |
| n-ヘキサン | 290 | < 0.1 |
| テトラヒドロフラン | 5000 | < 0.1 |
| トルエン | 890 | < 0.1 |
| トリエチルアミン | 320 | 10 |

結論

フラッシュ GC ノーズ HERACLES II によって、薬剤中に残留する可能性がある 13 種類の溶媒を、わずか 2 分で良好に分離し定量することができました。

また、国際的な規制によって定められた濃度限度値よりも低濃度を検出できる感度を示しました。

¹ Pharmacopée Européenne 4 - 5.4- Solvants résiduels

² USP 36 - <467> RESIDUAL SOLVENTS

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。 2016年7月