

アプリケーションノート

# 装置間のシームレスな分析法の移管および移行： Arc HPLC システムでのアスピリンおよび類縁物質の分析法の再現

Margaret Maziarz, Paul D. Rainville

Waters Corporation

## 要約

異なる LC システムへの移管やラボ間での移管を成功させるには、同じ分析で結果を再現することで性能の同等性を実証することが重要になります。このアプリケーションノートでは、アスピリンの医薬品有効成分（API）類縁物質の分析法の Arc HPLC システムへのシームレスな移行を、分析法の性能の同等性を実証することで示しています。他の同等の HPLC システムで得られたクロマトグラフィー分離の品質、システム適合性、類縁物質の分析結果が Arc HPLC システムで正しく再現されました。

## アプリケーションのメリット

- HPLC 分析法の Arc HPLC システムへのシームレスで簡単な移行
- Arc HPLC システムの頑健で信頼性が高く、再現性のある性能
- ラボの効率を改善し、生産性を最大化

---

## はじめに

バリデーション済みの分析法を、異なるベンダーの LC システムを使用している他のラボや、CRO および CMO などのパートナーに移管することはよくあります。分析法を移管する際には、品質管理および規制ガイドラインの遵守を確保するために、同一の分析において同等の結果が得られる必要があります<sup>1</sup>。更に、最新の装置をラボに導入する場合、バリデーション済みの分析法の性能特性すべてを再現できなければなりません。

特に異なるメーカー製の LC システム間でのクロマトグラフィー分析法の移管は、非常に困難な作業となることがあります。多くの場合、装置のシステム容量が異なるため、グラジエント分析法においてクロマトグラフィー分離の不良やピークの歪みが発生することがあります。そのため、同一の分析でも、複数の装置の間で異なる結果が生成されることがあります。

この文書では、アスピリン API 類縁物質のための HPLC 分析法を Arc HPLC システムに移行するケースを紹介します。クロマトグラフィー分離、システム適合性の結果、および類縁物質の分析結果を調べた結果、性能の同等性が実証されました。Arc HPLC システムにより、分析法が正しく再現され、同等の LC システムで得られた結果と同等のクロマトグラフィー分離および分析結果が得られることを示しています。

Arc HPLC システムは、ルーチン試験に適した頑健で信頼性および再現性の高い最新の装置であり、確立された HPLC 分析法を再現することができます<sup>2</sup>。

---

## 実験方法

### サンプルの説明

#### アスピリンと不純物の標準混合物

類縁物質およびアスピリン API を含む原液を、希釈液（0.1% ギ酸含有 60: 40 水/アセトニトリル）中にそれぞれ 1.0 および 5.0 mg/mL になるように調製しました。この API の原液を希釈液で 0.1 mg/mL になるように希釈し、類縁物質が 10% になるようにスパイクしました。

欧州薬局方が指定するアスピリンおよび類縁物質<sup>3</sup>を表 1 に示します。

化合物	名前	分子式	モノアイソトピック質量 (Da)	構造
アスピリン API	2-アセトキシ安息香酸、 O-アセチルサリチル酸	C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub>	180.04	
不純物 A	p-サリチル酸、 4-ヒドロキシ安息香酸	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	138.03	
不純物 B	4-ヒドロキシ-1,3- ベンゼンジカルボン酸、 4-ヒドロキシイソフタル酸	C <sub>8</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>	182.02	
不純物 C	サリチル酸、 2-ヒドロキシ安息香酸 o-ヒドロキシ安息香酸	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>	138.03	
不純物 D	アセチルサリチル酸、 2- (アセチルオキシ) 安息香酸	C <sub>16</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	300.06	
不純物 E	2- (2-ヒドロキシベンゾイルオキシ) 安息香酸、サルサレート	C <sub>14</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>	258.05	
不純物 F	2-アセトキシ安息香酸無水物、 O-アセチルサリチル酸無水物、	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> O <sub>7</sub>	342.07	

表 1. 分析法開発用化合物のリスト。アスピリン API の類縁物質（不純物）。

## アスピリン錠剤

粉碎した錠剤を希釈液（0.1% ギ酸含有 60: 40 水/アセトニトリル）中で 10 分間超音波処理し、アスピリンが 1.6 mg/mL になるように溶解しました。抽出後、サンプル試験溶液を 3,000 rpm で 10 分間遠心分離し、希釈液で 0.5 mg/mL になるように希釈しました。溶液を 0.2 μm ナイロンシリンジ（Waters 製品番号 WAT200524 <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/shop/sample-preparation--filtration/wat200524-acrodisc-syringe-filter-nylon-13-mm-02--m-aqueous-100-pk.html>>）を通してろ過してから分析しました。

## 分析条件

LC システム:

Agilent 1260 Infinity II LC システム、DAD 検出器搭載

	Alliance e2695 HPLC システム、2998 PDA 検出器、パッシブプレヒーター付きカラムヒーター/クーラーを搭載
	Arc HPLC システム、2998 PDA 検出器、パッシブプレヒーター付きカラムヒーター/クーラーを搭載
バイアル:	LCMS マキシマムリカバリー、容量 2 mL (製品番号 600000670CV)
カラム:	XSelect HSS T3、4.6 × 150 mm、3.5 μm (製品番号: 186004786)
カラム温度:	40 °C
サンプル温度:	10 °C
注入量:	15 μL
移動相:	A: 0.1% ギ酸水溶液 B: 0.1% ギ酸アセトニトリル溶液
洗浄溶媒:	ページ/サンプル洗浄溶媒: 60: 40 水/アセトニトリル シール洗浄溶媒: 90: 10 水/アセトニトリル
検出器の設定:	PDA: 210 ~ 400 nm (237 nm で抽出)

## グラジエント

時間 (分)	流速 (mL/分)	%A	%B	曲線
初期条件	1.8	95.0	5.0	6
0.10	1.8	95.0	5.0	6
7.60	1.8	5.0	95.0	6
9.20	1.8	5.0	95.0	6
9.30	1.8	95.0	5.0	6
13.00	1.8	95.0	5.0	6

## ソフトウェア

クロマトグラフィーデータソフトウェア (CDS) : Empower 3 FR4 SR2

---

## 結果および考察

アスピリンおよび類縁物質の分析は、以前に開発された分析法に基づいて、MS 適合の条件下で実施しました<sup>4</sup>。この分析法を、カラムカリキュレーターを用いて粒子径 3.5  $\mu\text{m}$  のカラムにスケーリングし<sup>5</sup>、Agilent 1260 Infinity II、Alliance e2695、Arc HPLC システムで実行しました。Arc HPLC システムで得られたクロマトグラフィー分離は、Agilent および Alliance HPLC システムでのデータと同等でした (図 1)。Arc HPLC システムでは、すべての分析種間の USP 分離度が 5.8 以上、ピークテーリング 1.1 ~ 1.2、保持係数 2.0 以上になりました。

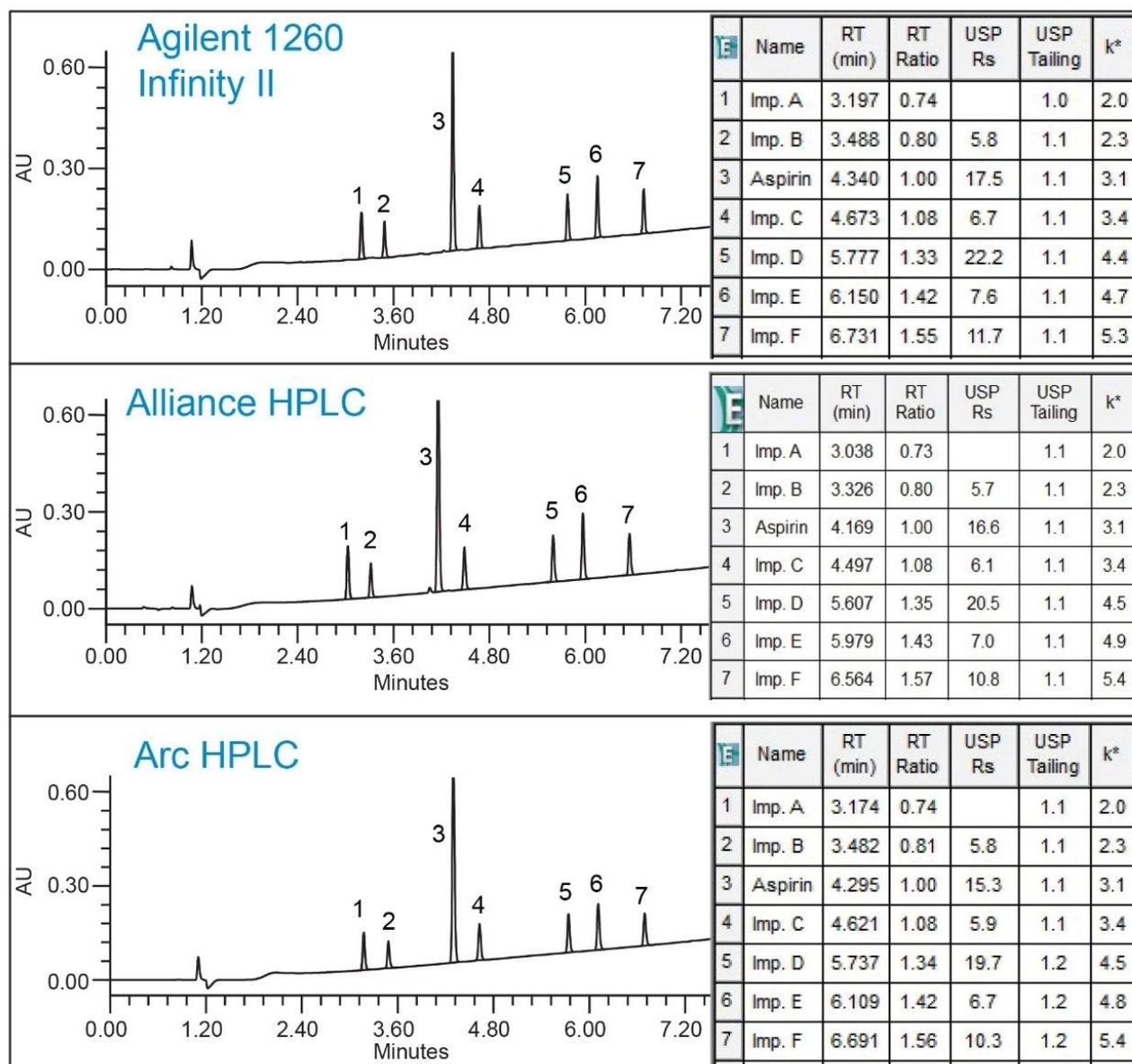


図 1. 異なるシステム間での分析法移管におけるアスピリンおよび不純物のクロマトグラフィー分離。UV 237 nm。

更に、類縁物質の相対保持時間（RRT）をシステム間で比較しました。RRT 値は、クロマトグラフィー分離におけるピーク同定の補助として使用されることが多いため、別のシステムに類縁物質の分析法を移管する場合も、その値が同一であることが重要です。この試験では、各類縁物質の保持時間とアスピリンの保持時間の比較により RRT を算出しました。データから、Arc HPLC システムで得られた RRT 値は、Agilent および Alliance システムでの結果と一致していることがわかりました（図 2）。全体的に、Arc HPLC システムでは、分析法を変更することなく、クロマトグラフィ

一分離の品質が正しく再現されていました。

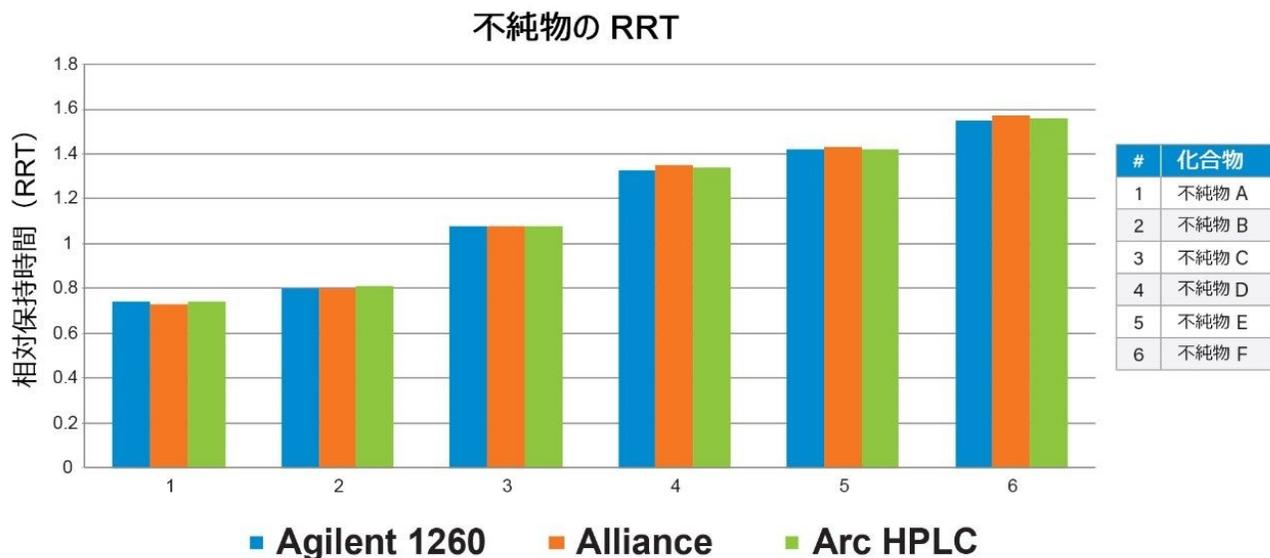


図 2. アスピリンの保持時間に対する類縁物質（不純物）の相対保持時間（RRT）の比

Arc HPLC システムでの分析法性能を評価するため、USP モノグラフに記載されているアスピリン錠剤の要件に従って、標準混合溶液を 5 回繰り返し注入してシステム適合性を評価し<sup>5</sup>、他のシステムと比較しました。USP システム適合性要件には、以下が含まれています。

- 分離度：サリチル酸（不純物 C）とアスピリンの間で 2.0 以上（NLT）
- 相対標準偏差（RSD）：サリチル酸（不純物 C）で 4.0% 以下（NMT）

3 つのシステムすべてで得られたシステム適合性結果が、USP 基準を満たしていました（図 3）。更に、Arc HPLC システムで生成された不純物 C のピーク面積と保持時間の RSD は、USP 要件である NMT 4.0% および他の LC システムで得られた結果よりも低いという結果でした。

Agilent 1260 Infinity II					Alliance HPLC					Arc HPLC				
	Name	RT	Area	USP Tailing		Name	RT	Area	USP Tailing		Name	RT	Area	USP Tailing
1	Aspirin	4.339	1229256	1.1	1	Aspirin	4.158	1498891	1.1	1	Aspirin	4.295	1325317	1.1
2	Aspirin	4.340	1238239	1.1	2	Aspirin	4.158	1510420	1.1	2	Aspirin	4.295	1329299	1.1
3	Aspirin	4.341	1248433	1.1	3	Aspirin	4.159	1519427	1.1	3	Aspirin	4.295	1332941	1.1
4	Aspirin	4.341	1250097	1.1	4	Aspirin	4.159	1520922	1.1	4	Aspirin	4.296	1323094	1.1
5	Aspirin	4.341	1237316	1.1	5	Aspirin	4.163	1532817	1.1	5	Aspirin	4.296	1326136	1.1
Mean		4.340	1240668	1.1	Mean		4.159	1516496	1.1	Mean		4.295	1327357	1.1
Std. Dev.		0.001	8610.283		Std. Dev.		0.002	12662.992		Std. Dev.		0.001	3833.233	
% RSD		0.02	0.69		% RSD		0.05	0.84		% RSD		0.02	0.29	

	Name	RT	Area	USP Rs	USP Tailing		Name	RT	Area	USP Rs	USP Tailing		Name	RT	Area	USP Rs	USP Tailing
1	Imp. C	4.673	237451	6.9	1.1	1	Imp. C	4.487	272883	6.1	1.1	1	Imp. C	4.621	250711	5.9	1.1
2	Imp. C	4.673	241529	6.8	1.1	2	Imp. C	4.487	275287	6.2	1.1	2	Imp. C	4.622	250396	5.9	1.1
3	Imp. C	4.674	238658	6.9	1.1	3	Imp. C	4.488	276095	6.1	1.1	3	Imp. C	4.623	252695	5.9	1.1
4	Imp. C	4.675	241209	6.8	1.1	4	Imp. C	4.488	276920	6.2	1.1	4	Imp. C	4.623	250344	5.9	1.1
5	Imp. C	4.675	238978	6.8	1.1	5	Imp. C	4.491	277389	6.1	1.1	5	Imp. C	4.624	250915	5.9	1.1
Mean		4.674	239565	6.8	1.1	Mean		4.488	275715	6.2	1.1	Mean		4.623	251012	5.9	1.1
Std. Dev.		0.001	1746.229			Std. Dev.		0.002	1775.039			Std. Dev.		0.001	969.299		
% RSD		0.02	0.73			% RSD		0.04	0.64			% RSD		0.02	0.39		

図 3. システム間での分析法移管におけるシステム適合性の結果

## 類縁物質の分析結果

類縁物質の含有量（% 不純物）については、各類縁物質のピーク面積を、アスピリンのピーク面積に対して比較することにより測定しました。Arc HPLC での錠剤サンプル溶液分析のクロマトグラフィーデータの例を図 4 に示します。分析結果を、アスピリン錠剤の USP モノグラフの不純物分析法で規定されている基準と比較しました<sup>5</sup>。コーティング錠中の不純物の USP 許容基準には、サリチル酸（不純物 C）3.0% 以下（NMT）が含まれています。Agilent 1260、Alliance、および Arc HPLC システムで得られた類縁物質の結果は USP 基準を満たしていました（表 2）。

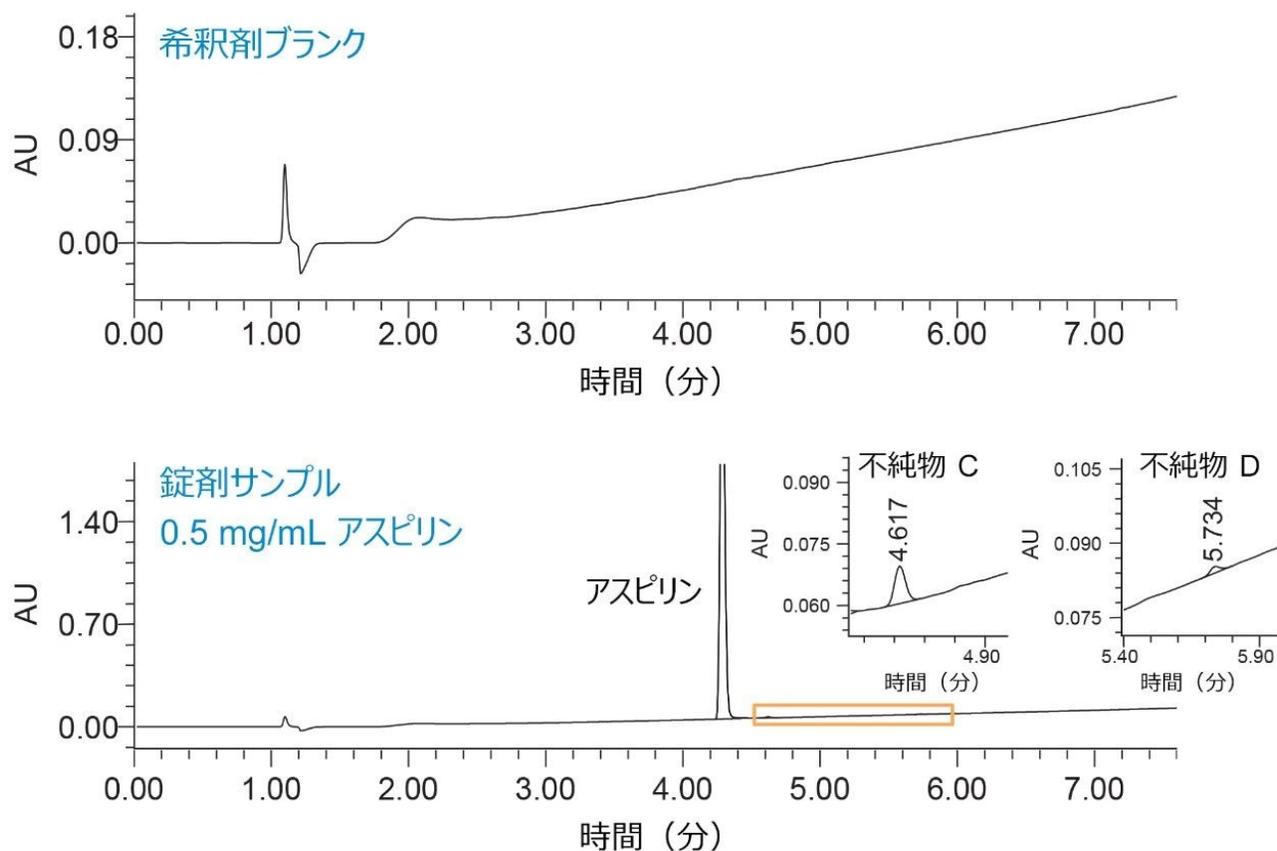


図 4. 錠剤サンプル溶液の類縁物質含有量についての分析。Arc HPLC システムで分析したアスピリン 0.5 mg/mL のサンプル。237 nm の UV。

システム	% 不純物 C	% 不純物 C
Agilent 1260 Infinity II	0.41	0.04
Alliance HPLC	0.37	0.05
Arc HPLC	0.38	0.04

表 2. 錠剤サンプル溶液の類縁物質についての分析結果 (%) は、USP 基準のサリチル酸 NMT 3.0% (不純物 C) を満たしていました

---

## 結論

Arc HPLC システムにおいて、Agilent 1260 Infinity II および Alliance HPLC システムで分析した、アスピリン有効成分類縁物質の分析法の再現に成功しました。Arc HPLC システムで得られたクロマトグラフィー分離、相対保持時間、システム適合性および類縁物質の分析結果は合格基準を満たしていました。

全体的に、Arc HPLC システムは、多様なプラットフォームからの既存の LC 分析法を容易に受け入れて再現し、分析法の完全性を損なうことなく同等の試験結果が得られました。これにより、既存の分析法を変更して再バリデーションする必要がなくなり、装置の交換時に、分析法の変更とみなされる可能性のある調整が不要になることで、規制ガイドラインへの準拠を維持することができます。Arc HPLC は、強力な性能、高い注入精度、少ないキャリーオーバー、高い背圧耐性を実現する最新の装置です。

---

## 参考文献

1. USP General Chapter (1224), Transfer of Analytical Procedures. United States Pharmacopeia USP 43-NF 38, official prior 2013.
2. Arc HPLC System. [https://www.waters.com/waters/en\\_US/Arc-HPLC-System/nav.htm?locale=en\\_US&cid=135068659](https://www.waters.com/waters/en_US/Arc-HPLC-System/nav.htm?locale=en_US&cid=135068659) <[https://www.waters.com/waters/en\\_US/Arc-HPLC-System/nav.htm?locale=en\\_US&cid=135068659](https://www.waters.com/waters/en_US/Arc-HPLC-System/nav.htm?locale=en_US&cid=135068659)> .
3. Ph.Eur.Monograph.Acetylsalicylic Acid. The European Pharmacopeia 10.0.01/2017:0309.
4. Maziarz M, Rainville P, Tran Pham. Development of a Robust Method for Analysis of Aspirin and Related Substances Using a Statistical Software and Quality-by-Design Approach. Waters Application Note 720007177EN <<https://www.waters.com/nextgen/us/en/library/application-notes/2021/development-of-a-robust-method-for-analysis-of-aspirin-and-related-substances-using-a-statistical-software-and-quality-by-design-approach.html>> .2021.
5. Waters Columns Calculator. <https://www.waters.com/waters/support.htm?lid=134891632&lcid=134891631&type=DWNL> <<https://www.waters.com/waters/support.htm?lid=134891632&lcid=134891631&type=DWNL>> .
6. USP Monograph for Aspirin Tablets. United States Pharmacopeia USP 43-NF 38, official 1 May 2020.

---

## ソリューション提供製品

Alliance HPLC システム <<https://www.waters.com/534293>>

2998 フォトダイオードアレイ (PDA) 検出器 <<https://www.waters.com/1001362>>

Empower クロマトグラフィーデータシステム <<https://www.waters.com/10190669>>

720007258JA、2021 年 6 月

© 2022 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[利用規約](#)  
[環境設定](#)

[プライバシー](#)

[商標](#)

[サイトマップ](#)

[キャリア](#)

[クッキー](#)

[クッキー](#)