



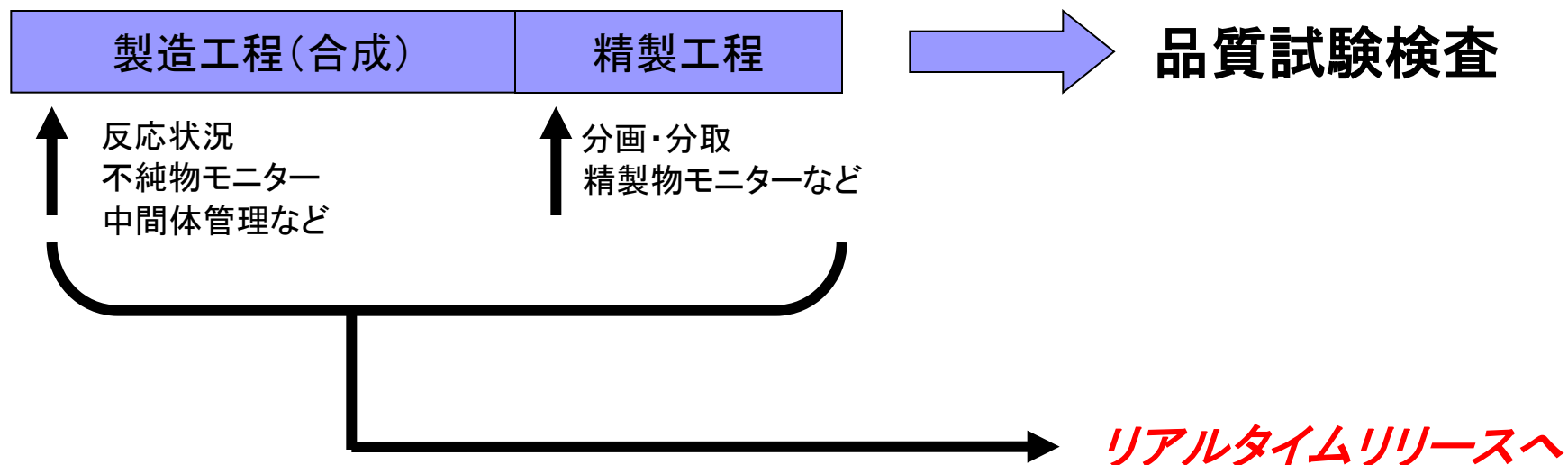
超高速液体クロマトグラフィーを 用いた製造工程モニタリング

国立医薬品食品衛生研究所
坂本 知昭

工程分析技術としてUHPLCに 期待されること

- 特異性の高い分析が可能
- 迅速な分析(3分以内, 条件により1分程度)が可能
- 少量の移動相で分析(環境への配慮)
- 分析法バリデーションが容易
- 微量混在成分の検出が可能(／MS)

工程内分析ツールとしてのクロマトグラフィー (導入可能性)



工程状況の把握

品質頑健性の保持

合成工程のリアルタイム解析に関する研究成果の紹介

ヒューマンサイエンス振興財団創薬等政策総合事業研究費補助金研究(KHB1006)

■ 目的:

UHPLCを用いた原料, 生成物, 不純物のリアルタイムモニター

■ 仮定した管理パラメータ:

反応温度: 0°C, 30°C (基準温度), 60°C

■ モデル反応

2, 3時間で完了する合成工程を想定

本研究で用いたモデル合成工程

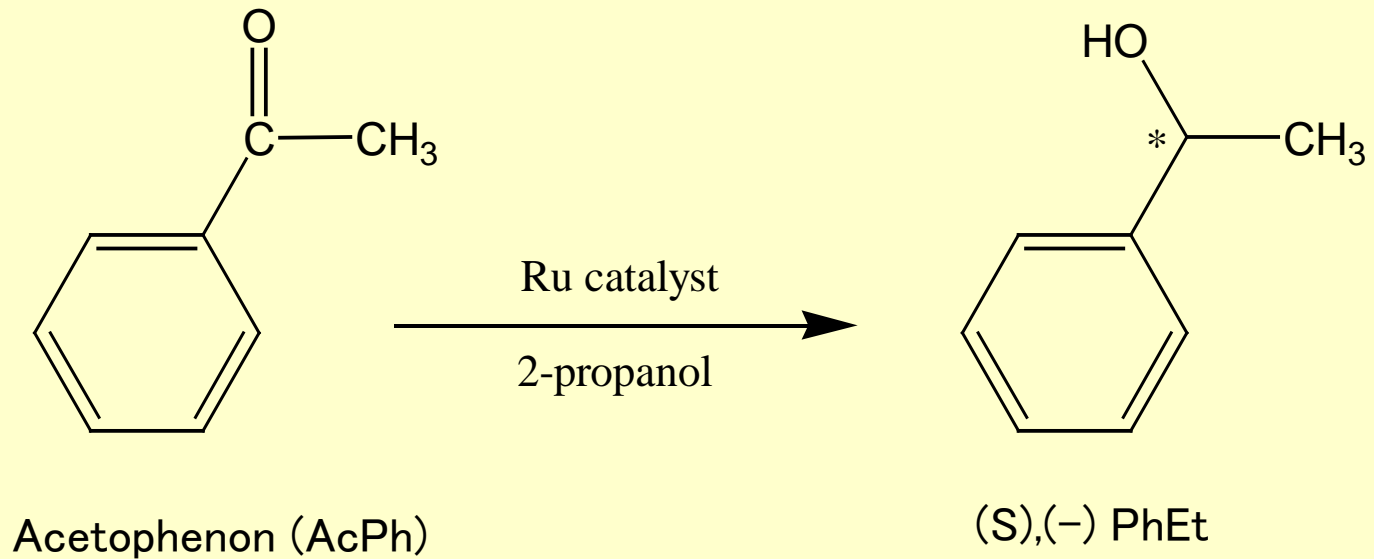


Figure 1 The synthetic scheme using this study

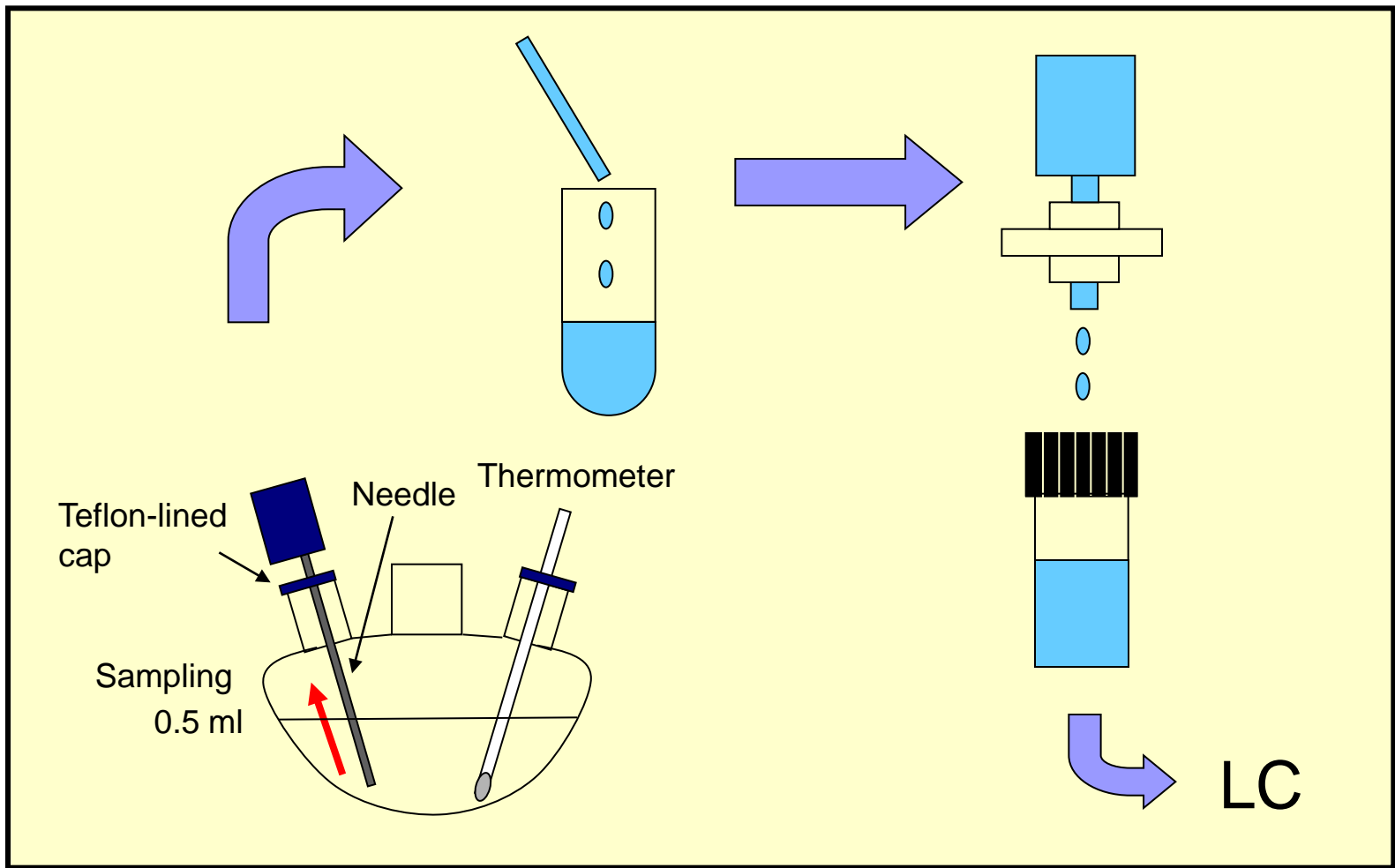


Figure 2 The sketch of experimental design

前処理及び分析条件

Sampling (0.5ml)



←···· CH₃CN (4.5 ml)

Filtration
(pore size; 0.2 µm) x 2



Injection (1 µl)

Instrument

AQUITY Ultra Performance LC™ (Waters Co.)

Column

Acquity UPLC BEH C18

(50mm x 1.0mm I.D., 1.7µm particle size)

Detection

UV (257nm)

Oven

40°C

Mobile phase

CH₃CN/H₂O (6:4)

Flow rate

0.4 ml/min

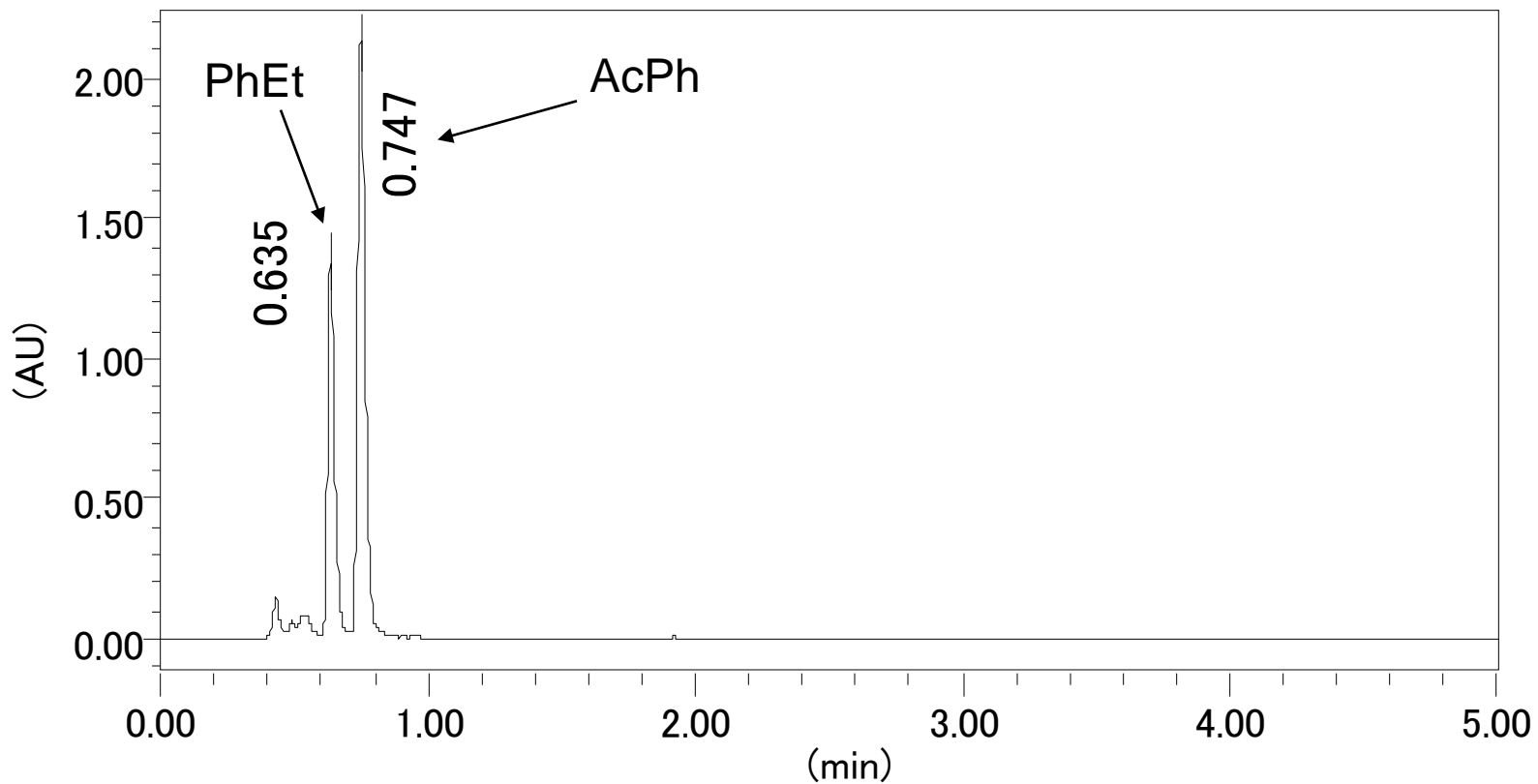


Figure 3 Chromatogram of the reaction solution at 180 min (at 30 °C)

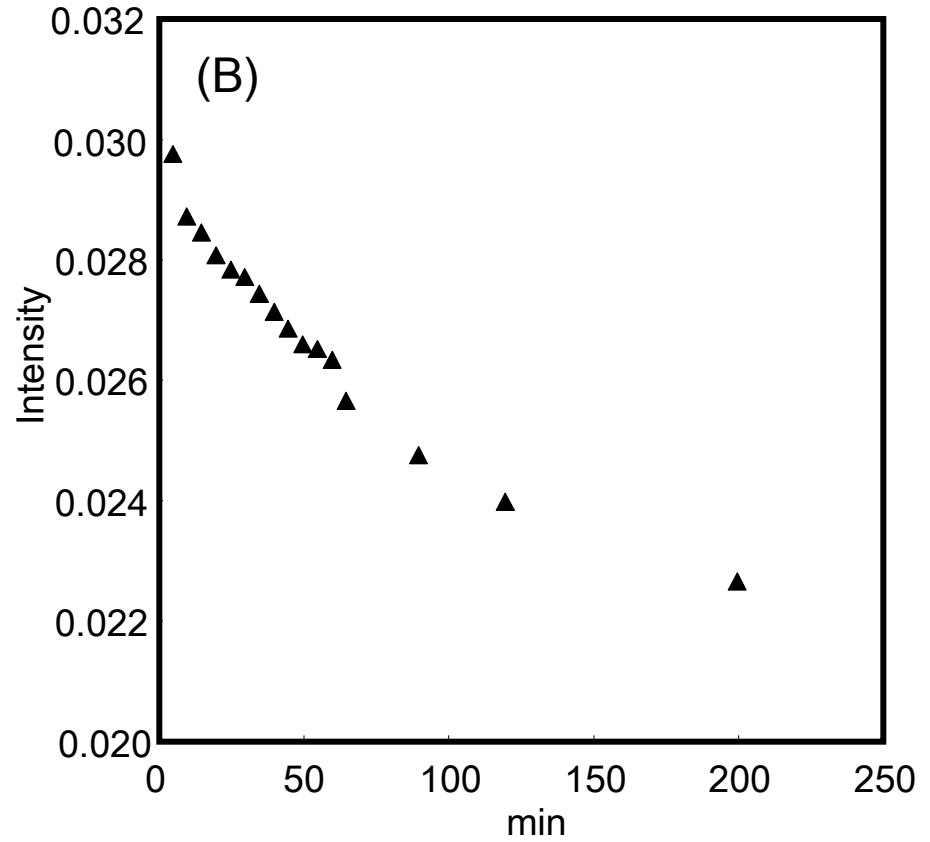
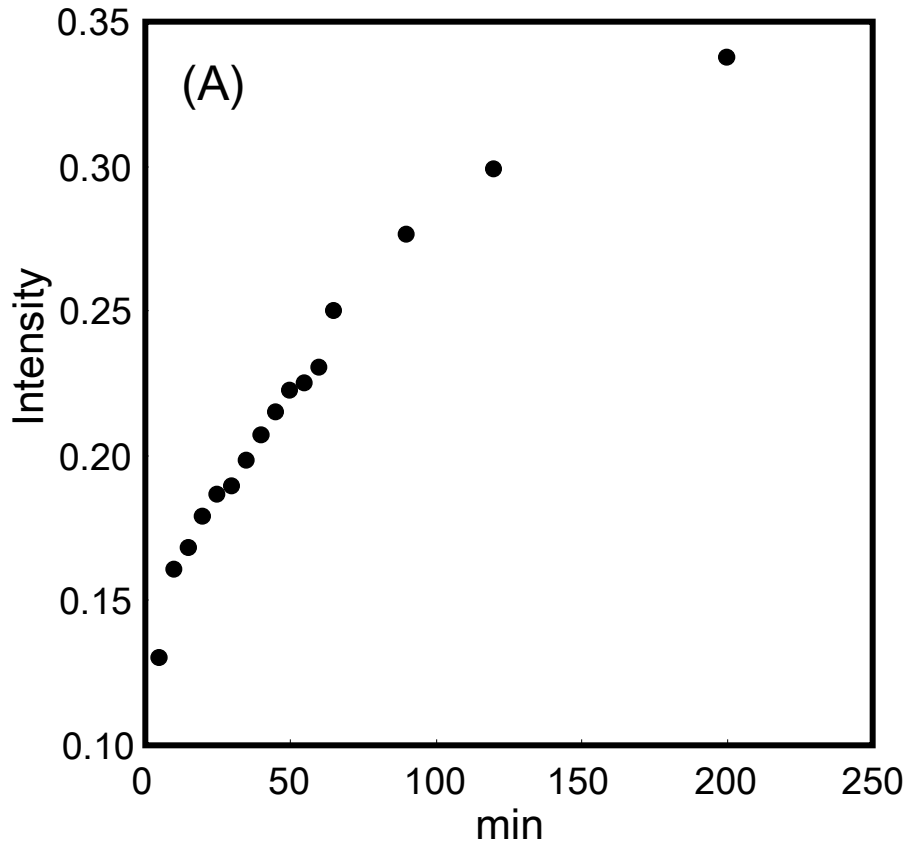


Figure 4 Time courses of the intensities of PhEt peaks (A) and AcPh peaks (B) on the chromatograms at 30 °C

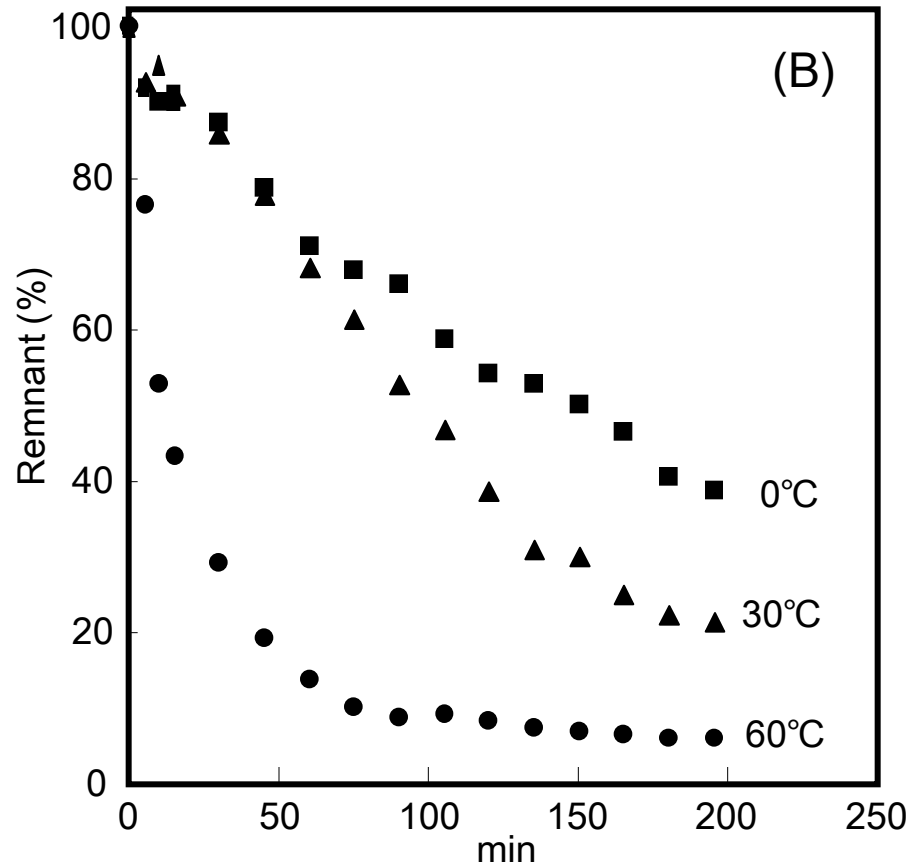
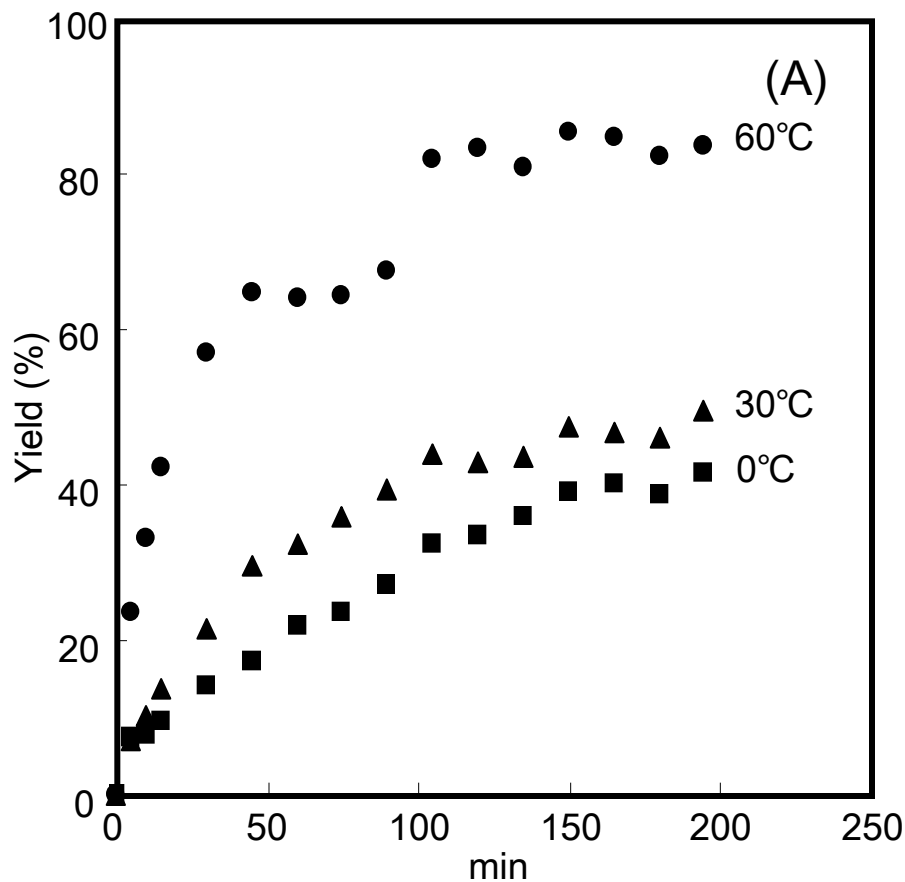


Figure 5 Time courses of the yields (%) of PhEt in the reaction solution (A) and the remnant (%) of AcPh in the reaction solution (B) at the three different temperature conditions

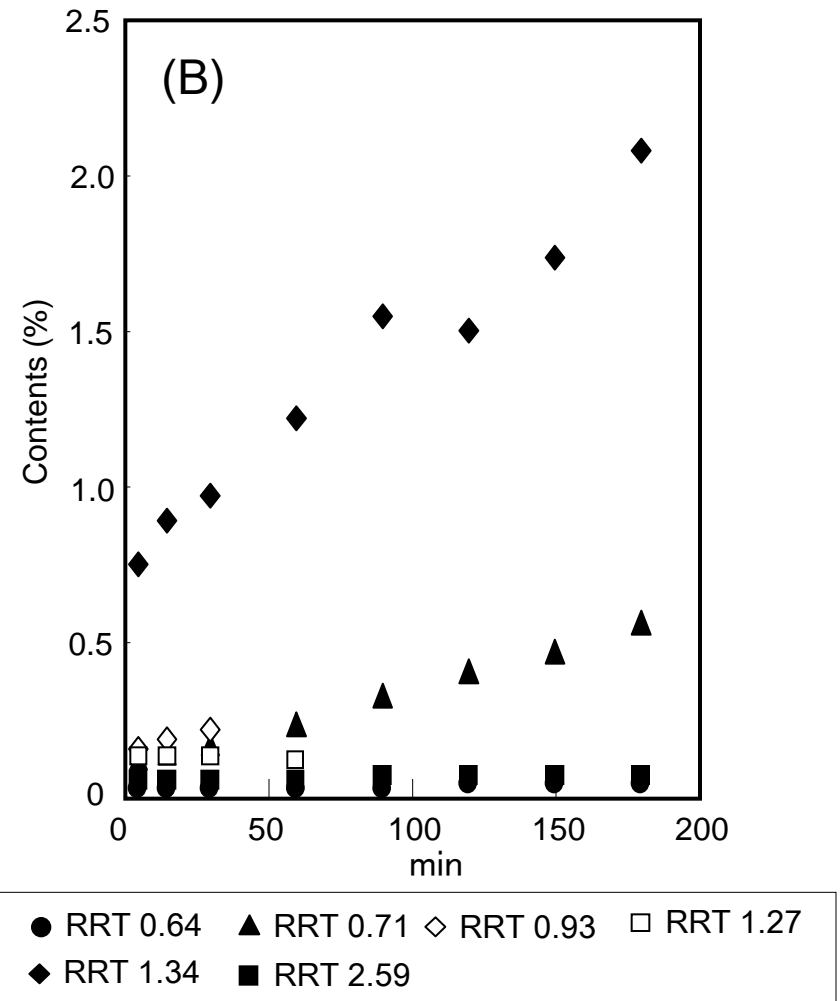
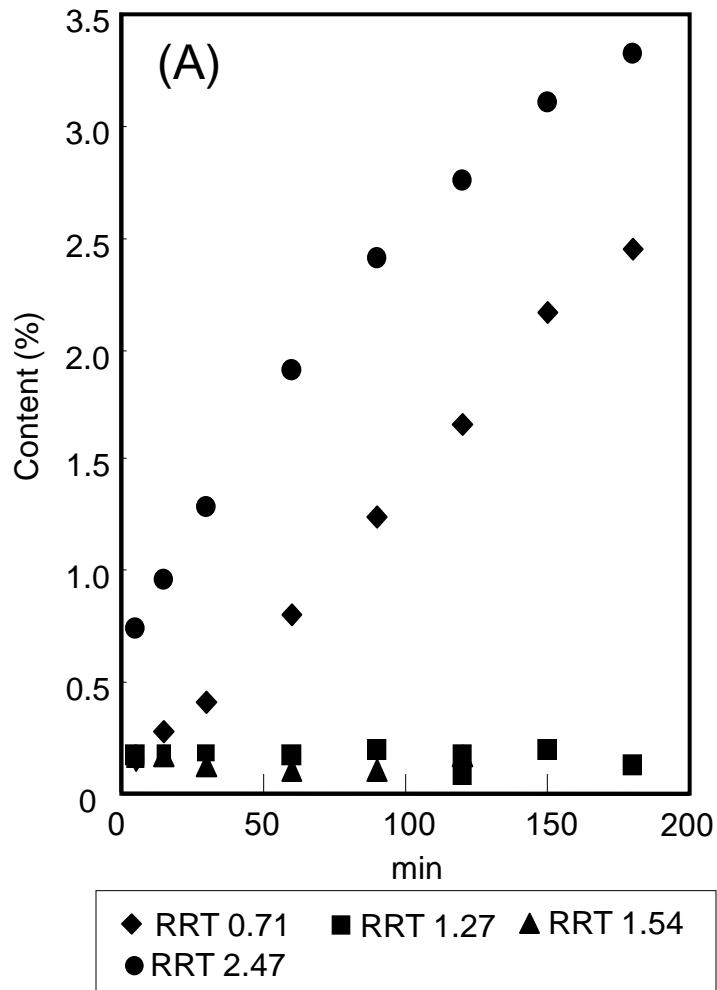


Figure 6 Time courses of the impurities in the reaction solutions at 30°C (A) and 0°C (B)

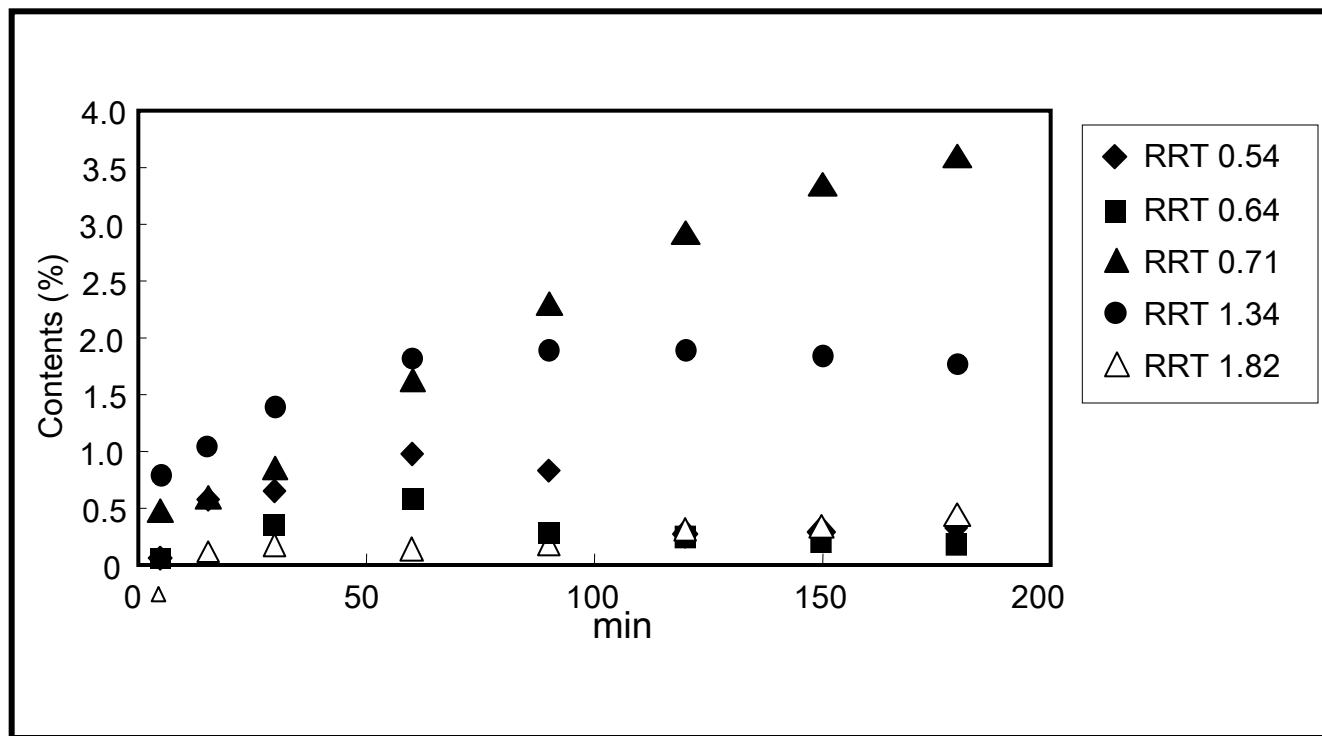


Figure 7 Time course of the impurities in the reaction solution at 60°C

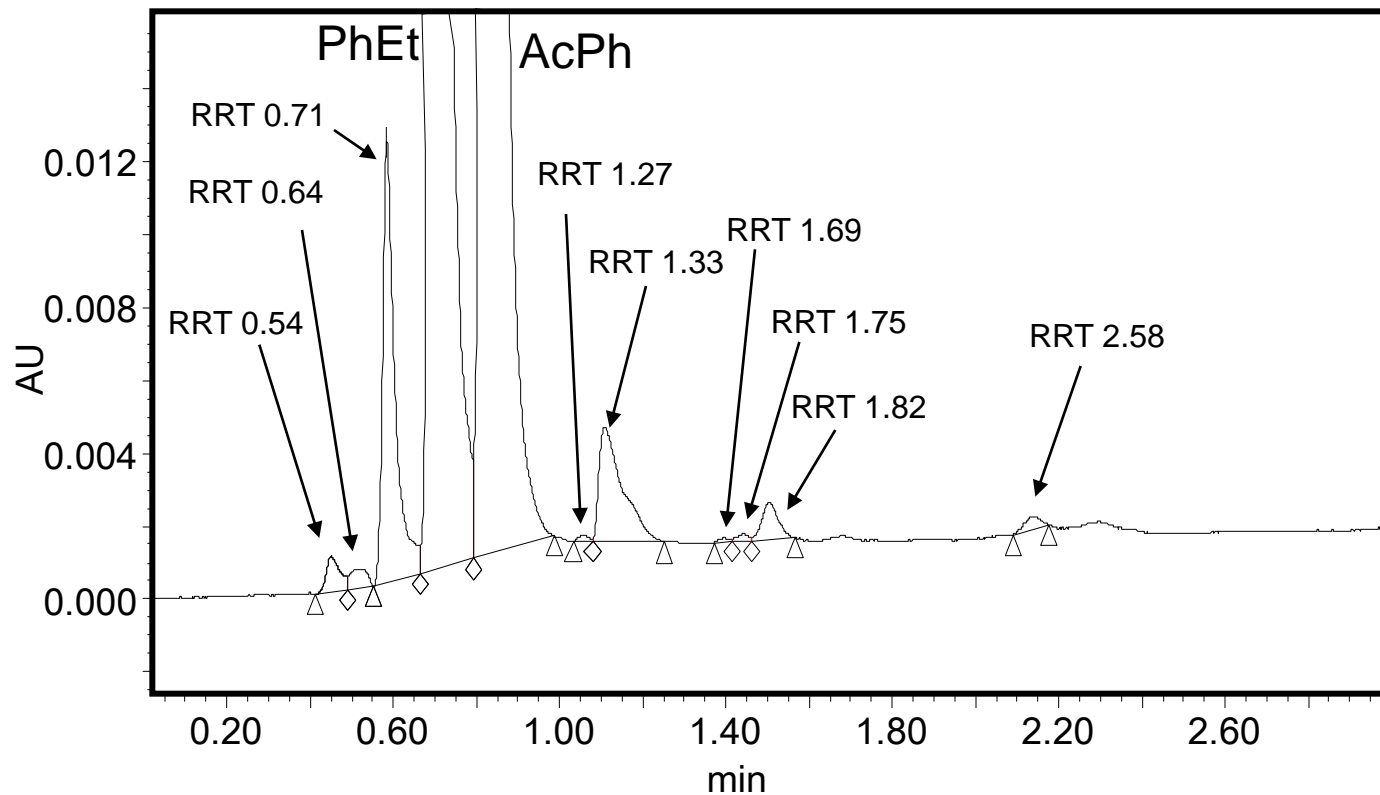


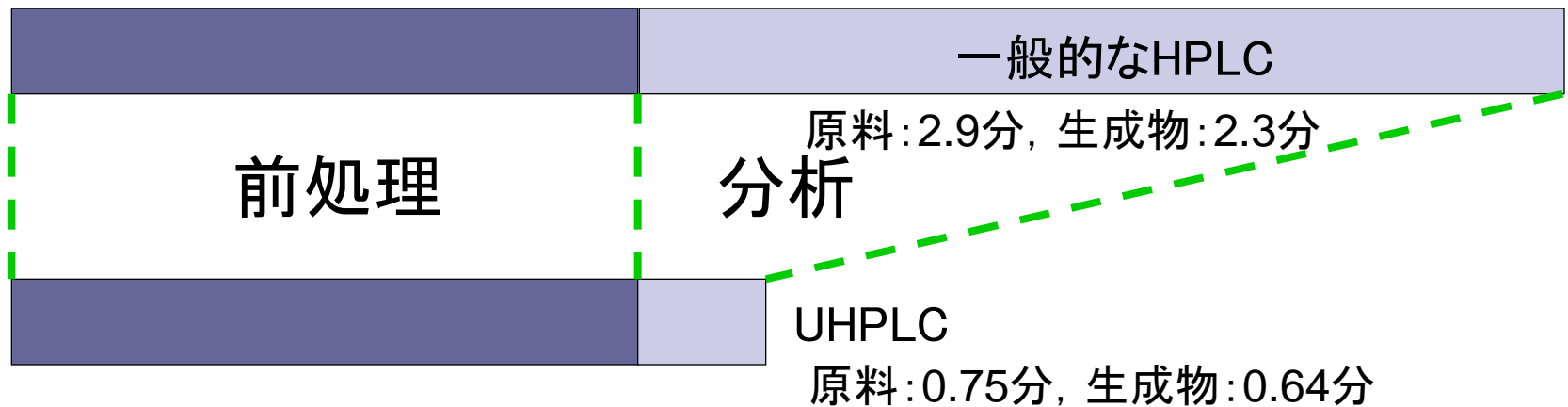
Figure 8 Chromatogram at 180 min of the reaction solution at 60°C

Table 1 Detected Impurities at the three difference reaction temperatures at 180 min after the reaction was started

		Impurities amounts (%)									
		RRT 0.54	RRT 0.64	RRT 0.71	RRT 1.27	RRT 1.34	RRT 1.69	RRT 1.75	RRT 1.82	RRT 2.47	RRT 2.59
Temp.	0°C	----	0.03	0.53	----	2.04	----	----	----	----	0.03
	30°C	----	----	2.38	0.07	----	----	----	----	3.27	----
	60°C	0.34	0.22	3.63	0.04	1.78	0.03	0.06	0.4	----	0.14

T. Sakamoto et al., *J. Pharm. Innov.*, 4, 115-120 (2009)

HPLCとUHPLCの比較 工程分析への適用に向けて



- **前処理が分析の律速段階**
⇒ いかにか効率良く前処理ができるか
- On-lineで適用するには**試料の採取から注入までオートメーション化が必要**
- 分析結果の工程への**フィードバック**

LCの特徴を活かして

合成工程における…

- 主生成物及び原料の経時変化(反応状況)モニター
 - 主生成物の量的確認
 - 不純物モニターと量的確認
-
- 分析法バリデーションの容易さ
 - 工程分析ツールとしてばかりでなく、開発段階における分析に要する時間の短縮にも貢献(特にUHPLC)

プロセス解析用UHPLC装置 (at line用) (PATROL UPLC プロセスアナライザ)

UPLC部

オペレータの GUI &
タッチスクリーン

サンプルマネジメント部

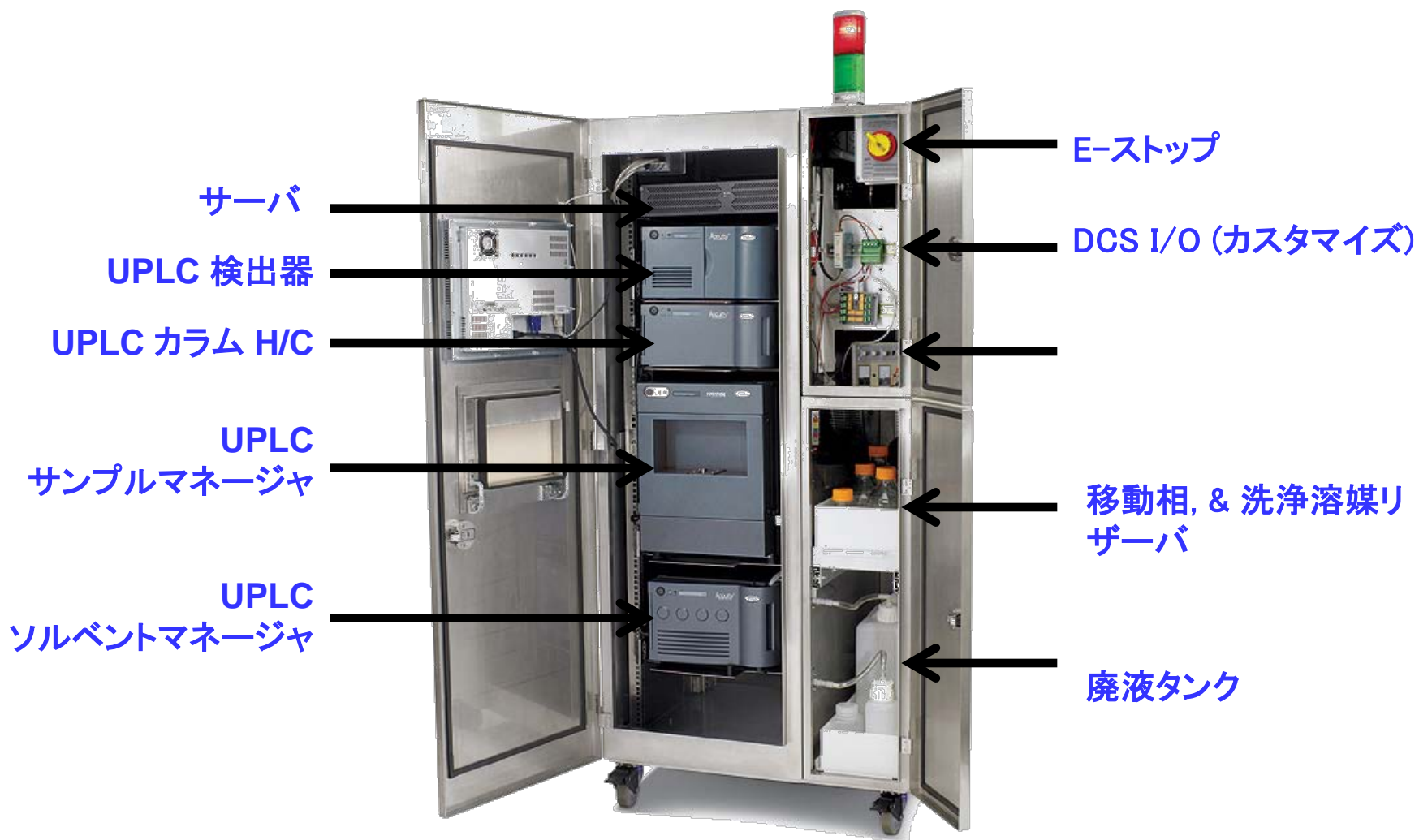
- Atline: サンプル,
スタンダード& コントロール
- Online: スタンダード& コントロール

電子 &
コミュニケーション部

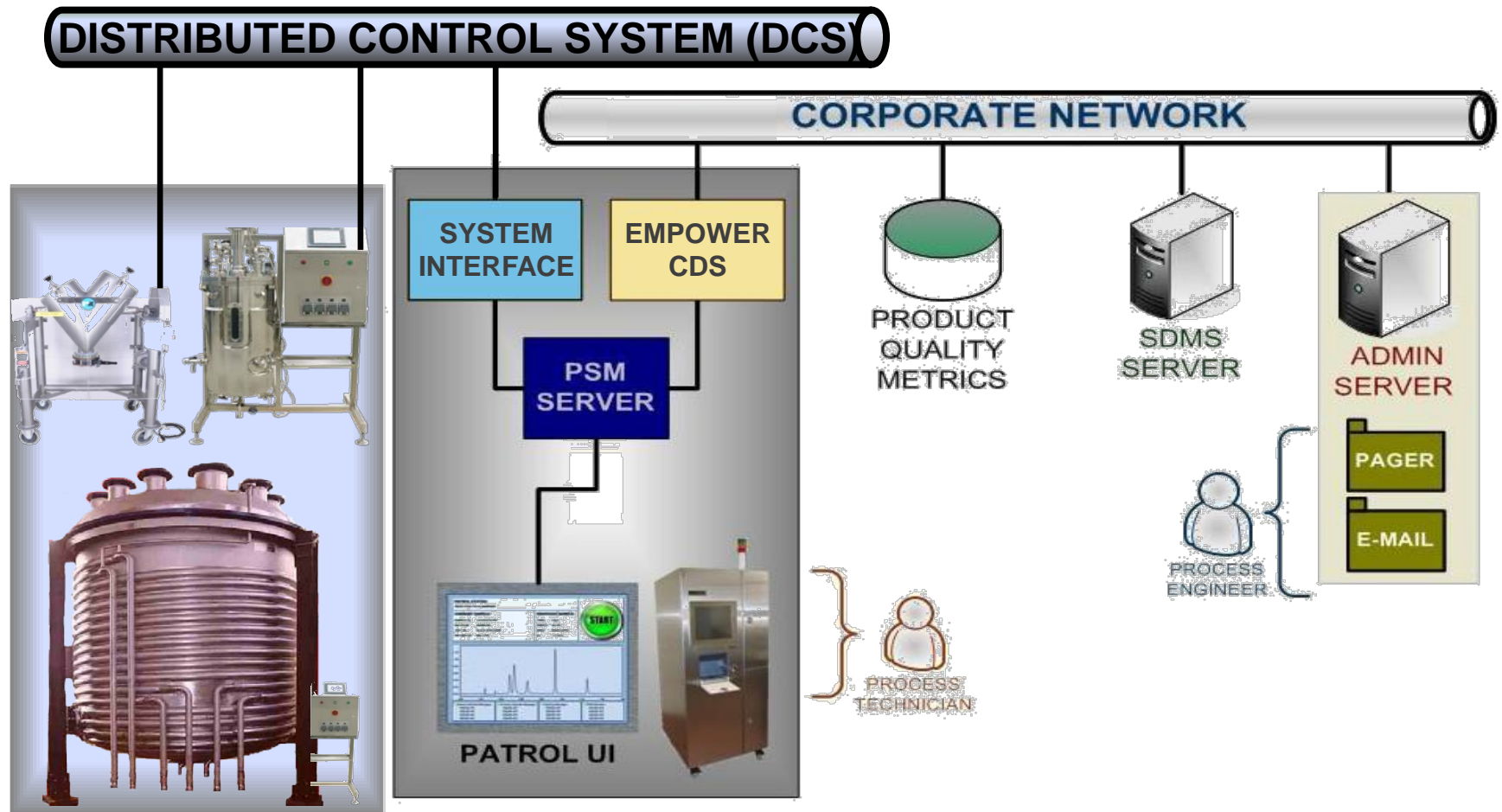
バッファー, 溶媒 &
廃液部



独立した3つのコンポーネント



プロセス用UHPLC技術と導入イメージ



ご清聴ありがとうございました