



低水溶性化合物の TOC 分析； 洗浄バリデーションのためのスワブ回収率の評価

本試験の目的は、全有機炭素 (TOC) 分析を用いて低溶解度の化合物が回収可能かどうかを評価することでした。Merck Index では、低溶解度化合物の溶解度を "substantially insoluble" または "practically insoluble" と記載しています。本試験の目的は、このような低溶解度の化合物の溶解度を実験的に測定し、スワブ法による回収率を調べることでした。秘密保持契約のため、本試験で使用した化合物の名前は明らかにできませんが、表 1 に示す化合物 A~F は低分子化合物 (300~600g/mol) です。

器具および機器

- 10 cm×10 cm の領域をエッチングしてある 12 cm×12 cm ステンレススチールクーボン、CIP-100 で洗浄後、低 TOC 水でリンスし、乾燥させたもの
- グローブ (パウダフリー)
- USP<1051>Cleaning Glass Apparatus に従い洗浄された計量フラスコ
- スワブ (Texwipe 社製 Alpha Swab)
- 洗浄済み 40 mL バイアル
- 30 mL 計量ピペット
- CIP-100 と低 TOC 水で洗浄済みの Hamilton 社製ガスタイトシリンジ
- Sievers 800AS TOC 分析計 (現行モデル Sievers 900)

試験手順

有機汚染を最小限にするために、実験中はパウダフリーのグローブを着用しました。各化合物の溶解度は、低 TOC 水に試験化合物を添加して実験的に求めました。混合液は、振盪し攪拌した後に超音波処理をしてよく溶かしました。目視で検査した後に、原液の炭素濃度を以下の式で算出しました。

$$\frac{\text{化合物量 (mg)}}{\text{水溶液量 (L)}} \times \text{炭素量\%} = \text{ppm c}$$

炭素量%は、各化合物の実験式から求めます。

$$\text{炭素量\%} = \frac{\text{炭素量 (mg)}}{\text{分子量}}$$

例えば、化合物 $C_{20}H_{22}N_4O_{10}S$ の炭素量%は、以下のようになります。

$$\text{炭素量\%} = \frac{12 \times 20}{510.3} = \text{炭素量}47\%$$

各原液の炭素濃度は TOC 分析によって検証されました。化合物 A と B の原液は直接分析し、化合物 C から F については 10 倍の希釈液を作製しました。TOC 分析の前に、各原液を少量 (2 mL) 取り、pH 2 未満になるまでリン酸を添加し酸性化させました (化合物 C~F の溶液については、希釈液を少量取ってから酸性化しました)。酸を添加した溶液を目視で沈殿物の有無を調べたところ、どの酸添加溶液にも沈殿物は認められませんでした。その上で、原液 A および B、ならびに C から F までの希釈液を Sievers 800 TOC 分析計を用いて分析しました。

TOC の測定値は算出した炭素濃度と一致し、表 1 に示すように化合物の溶解度が得られました。

スワブ法による回収試験のために以下の溶液が調製されました。

1. 試薬調製水 バイアル 2 本
2. バックグラウンドスワブ溶液 バイアル 2 本
3. 各化合物のスパイク溶液 バイアル各 2 本 (合計 12 本)
4. 各化合物のスワブ回収液 バイアル各 2 本 (合計 12 本)

試薬調製水: 30 mL のピペットを使い、28 本の洗浄済みバイアル (40 mL) に 30 mL の低 TOC 水を充填しました。充填後、直ちに各バイアルのキャップを閉めました。2 本を試薬調製水としてラベルを貼り、後で行なう TOC 測定のために取っておきました。残りの 26 本を用いて、バックグラウンドスワブ溶液、スパイク溶液およびスワブ回収液を調製しました。

表 1 スワブ法による回収試験の結果

試薬調整水の TOC		40 ppb			
バックグラウンドスワブの TOC (試薬調整水にスワブ 3 本を浸漬)		244 ppb			
化合物名	化合物のクラス	水への溶解度 (23°C) (原液) (ppm C)	スパイク溶液の TOC (ppm C)	スワブ回収液の TOC (ppm C)	回収率 (%)
A	ステロイド	17	0.577	0.773	99%
B	b-ラクタム	25	0.821	0.976	94%
C	スルホンアミド	280	1.62	1.79	98%
D	スルホンアミド	150	1.03	1.20	97%
E	ピリミジン	51	0.875	0.927	83%
F	スルホンアミド	50	1.05	1.26	100%

バックグラウンドスワブ溶液: カットした 3 本のスワブチップを 30 mL の低 TOC 水に浸してバックグラウンドスワブ溶液を 2 本調製しました。水の中にカットしたスワブの握りの部分を汚染させないように注意を払いました。

スパイク溶液: 各原液から少量 (0.1~1.0 mL の範囲) を取り、試薬調整水 (30 mL) に滴下して、スパイク溶液 (各化合物に対しバイアル 2 本) を調製しました。各化合物の滴下量は、スパイク溶液の最終濃度が約 1 ppm C となるように選択しました。

スワブ回収液: スワブ回収液を調製するために、スパイク溶液を調製したときと同量の各化合物の原液をステンレススチールクーポン上に滴下しました。滴下した原液は試験片表面の 10 cm×10 cm の範囲に均等に広げ、試験片をそのまま乾燥させました (約 1 時間)。低 TOC 水であらかじめ湿らせた 3 本のスワブを用いて、続けて試験片の表面を拭き取りました。3 本のスワブをカットして試薬調整水 (30 mL) バイアルに入れました。分析前に全てのバイアルを強く振っておきました。

全バイアル (28 本) をオートサンプラー付きの TOC 分析計 Sievers 800AS を用いて分析しました。分析条件は、酸化剤流量 0.2μL/min、酸の流量 0.75 μL/min でした。各バイアルについて同様の分析を 4 回繰り返して行ない、最初の測定値は捨て、残りの 3 回の測定値の平均を求めました。2 本のバイアルの結果の平均値を求め、表 1 に示したデータが得られました。これらのデータを用いて図 1 に示す計算式により回収率を算出しました。

結論

A~F の化合物は、Merck Index では水に "substantially insoluble" (実際上不溶) または "practically insoluble" (事実上不溶) と記載されていますが、本試験では、これらの化合物の常温での溶解度が ppm の範囲にあることが実験的にわかりました。本試験化合物は、ステンレス製の試験片からスワブ法と TOC 分析計を用いて有効に回収されました。

本試験の結果は、TOC 分析による洗浄バリデーションが実施可能であることを示しています。A~F のような有機化合物は、これまで水に "不溶性" と言われてきましたが、TOC 分析計を用いて回収する上で十分な可溶性があるといえます。

$$\text{回収率} = \frac{(\text{スワブ回収液の TOC} - \text{バックグラウンドスワブ溶液の TOC})}{(\text{スパイク溶液の TOC} - \text{試薬調整水の TOC})} \times 100\%$$

計算例
 (化合物 A) 回収率 = $\frac{(0.773 - 0.244) \times 100\%}{(0.577 - 0.040)} = 99\%$

図 1 スワブ法による回収率の計算法

© 2010 GEヘルスケア・ジャパン株式会社 本書の全部または一部を無断で複製することは、著作権法上の例外を除き、禁じられています。本書に掲載されている製品の名称、仕様などは改良のため予告なく変更される場合があります。掲載されている社名や製品名は、各社の商標または登録商標です。

GEヘルスケア・ジャパン株式会社
 ライフサイエンス統括本部
 〒169-0073
 東京都新宿区百人町 3-25-1 サンケンビルディング
 お問い合わせ: バイオダイヤル・フライン
 TEL: 03-5331-9336 FAX: 03-5331-9370
 e-mail: Tech-JP@ge.com

