

ワーストケースにおける化合物のスワブ回収率 (実現可能性テスト)

Application Note

Parental Drug Association(PDA)のテクニカルレポートNo.49は、洗浄バリデーションプログラムの開発と評価の参考になります。レポートでは、洗浄プロセス自体の理解に基づいて考慮すべき重要なポイントとして、設計/設備の検証/継続的なベリフィケーションを行う必要があるとしています。温度/時間/洗浄剤濃度などの重要工程パラメータ (CPP) やTOCなどの分析方法の理解も必要です。

分解は洗浄バリデーションのさまざまな要素に影響を与える洗浄プロセスの重要なメカニズムです。例えば、洗浄後に有効成分 (API) /たんぱく質/賦形剤/洗浄剤が表面に存在してはなりません。ただし、CPPが適切に監視・制御されない場合、表面に化合物が残留する可能性があります。この場合、TOCスワブ回収率を使用した実現可能性テストを実行する必要があります。TOCはAPI/界面活性剤/分解剤など表面に残留する物質を検出できる非特異的な分析方法です。通常、洗浄プロセスが効果的であるかどうかを判断するために、分解物を特異的分析方法で検出することは適切ではありません。

このアプリケーションノートで紹介する実現可能性テストは、ワーストケース (低溶解性化合物) または洗浄プロセスの設計が不適切な場合のTOC分析法の回収率を検証することを目的としています。

実現可能性テストで使用するもの

- ステンレスクーポン：アルカリ性洗浄剤で洗浄し、低TOC水ですすぎ、乾燥させたもの
- メスフラスコ：アルカリ性洗浄剤で洗浄し、低TOC水ですすぎ、乾燥させたもの
- 低TOCスワブ (製品コード：SHMI90600)
- 低TOCバイアル<85% リン酸 20 μ L添加> (製品コード：SHMI90690-01) またはリン酸溶液充填済みバイアル<0.072% リン酸溶液 40mL> (製品コード：SHMI90691-01)
- ホールピペット
- Sievers TOC計

実現可能性テストの溶解度決定手順

有機汚染を最小限に抑えるために、パウダーフリーの手袋を着用しました。各化合物の溶解度は、化合物を低TOC水に添加したプレテストによって決定しました。分析前に化合物を溶けやすくするために、混合物を振り混ぜ、攪拌し、超音波処理しました。フラスコを目視検査した後、ストック溶液の炭素濃度を以下のように計算しました。

$$\frac{\text{化合物の量(mg)}}{\text{液量(L)}} \times \text{炭素含有率(\%)} = \text{ppm C}$$

炭素含有率は化合物の化学式から求めました。

$$\text{炭素含有率(\%)} = \frac{\text{炭素原子量}}{\text{分子量}}$$

例えば、化合物 $C_{20}H_{22}N_4O_{12}S$ の炭素含有率は以下の通りです。

$$\text{炭素含有率(\%)} = \frac{12 \times 20}{510.3} = 47\%$$

化合物のストック溶液を表1に示します。化合物AとBのストック溶液は無希釈で測定し、化合物C~Fのストック溶液は10倍希釈しました。その後、ストック溶液を清浄なクーポンへ滴下しました。化合物がガラス表面に付着してTOC回収率が低下するのを防ぐために、各バイアルを少量のリン酸で酸性化しました。酸性化済みバイアルを使用する場合、この手順は不要です。注意：スワブテスト中のエラーを減らすために、Sieversは低TOC水と酸が事前に添加されたリン酸溶液充填済みバイアルを提供しています。

このテストでは、以下を用意しました。

- 試薬水バイアル 1本
- スワブブランク用バイアル 1本
- クーポンブランク用バイアル 1本
- コントロール溶液用バイアル 6本
- スワブ回収溶液用バイアル 6本

TOC回収率テスト

回収率テストのベストプラクティスを紹介します。

試薬水（ブランク）：ホールピペットを使用して、洗浄済みの低TOCバイアル15本に40mLの低TOC水を充填し、すぐにキャップをしました。

スワブブランク：2本のスワブの先端をバイアルに折り入れたものをスワブブランクとしました。

クーポンブランク：清浄で乾いたステンレスクーポンを2本のスワブで拭き取ったものをクーポンブランクとしました。1本目のスワブは低TOC水で濡らしました。2本目のスワブは乾燥したものを使い、1本目と反対の順序でクーポンを拭き取りました。スワブの先端をバイアルに折り入れました。スワブブランクと近い結果が得られることが予想されます。

コントロール溶液：ストック溶液を試薬水入りのTOCバイアルに添加して濃度調製したものをコントロール溶液としました。各化合物は洗浄バリデーションの一般的な「デフォルト」の基準値である約1 ppm Cに調製しました。

スワブ回収溶液：コントロールに使用したストック溶液をステンレス鋼クーポンに滴下しました。10 x 10 cmのクーポンに均等に溶液を滴下して、クーポンを乾燥させました。クーポンブランクと同様に2本のスワブを使ってクーポンの表面を拭き取り、スワブの先端を各バイアルに折り入れました。バイアルは分析前に強く振りしました。

TOC分析：USP<1058>に従って適切に検証された、ガス透過膜式導電率測定方式のSievers TOC計を使用して、製薬業界やバイオ医薬品業界で一般的な洗浄剤や化合物の試験を行いました。試薬流量（酸/酸化剤）は化合物の濃度に基づき決定しました。酸流量は0.2~1.0 μL/min、酸化剤流量は0.75~1.5 μL/minでした。各バイアルは4回測定、1回目の結果を棄却し、残り3回の平均値を求めました。以下の計算式に基づいて測定結果から回収率を計算しました。回収率テストの結果を表1に示します。

まとめ

スワブ法によるTOC分析によってステンレスクーポンから各化合物を高精度で回収できたため、洗浄バリデーションにTOCを利用することができると言えます。

メルクインデックスにおいて化合物A~Fの水への溶解性は「実質的に不溶性（substantially insoluble）」または「実質的に不溶性（practically insoluble）」と記載されていますが、室温での溶解度は100万分の1（ppm）の範囲であり、TOC分析によって十分回収できる溶解度です。今回のテストは、特に洗浄性能パラメータが満たされていないか、制御されていない状況で、洗浄プログラムを設計する際のワーストケースを想定しています。

（翻訳：セントラル科学株式会社）

$$\text{回収率 (\%)} = \frac{(\text{スワブ回収溶液} - \text{スワブブランク})}{(\text{コントロール溶液} - \text{試薬水})} \times 100 \%$$

計算例（化合物A）

$$\text{回収率 (\%)} = \frac{(0.773 - 0.244)}{(0.577 - 0.040)} \times 100 \% = 99 \%$$

表1. スワブ回収率テストの結果（実現可能性）

TOC試薬水（ブランク） 40 ppb					
スワブブランク 244 ppb					
化合物	種類	ストック溶液の水への溶解度 (ppm)	コントロール (ppm)	スワブ回収率 (ppb)	回収率
A	ステロイド	17	0.557	0.773	99 %
B	β-ラクタム	25	0.821	0.976	99 %
C	スルホンアミド	280	1.62	1.79	98 %
D	スルホンアミド-HCl	150	1.03	1.20	97 %
E	ピリミジン	51	0.875	0.927	83 %
F	賦形剤	50	1.05	1.26	100 %

* Trademark of Veolia, may be registered in one or more countries.