

Application News

サプリメントを用いたオンライン溶出試験

田邊 彩乃、松岡 佳那

ユーザーベネフィット

- ◆ 溶出試験の自動化が実現できます。
- ◆ 自動サンプリング機能によって、再現性の良い試験を行うことができます。
- ◆ 医薬品と同様に、サプリメントの溶出試験も可能です。

■はじめに

製剤の製造管理については、日本薬局方(JP)や米国薬局方(USP)などの規格によって崩壊試験や溶出試験が定められています。一方サプリメントに対しては、日本国内では特に規制がなく、製造・品質の管理は製造者に任されています。

溶出試験は、製剤の有効成分が体内と似た環境下で規定時間内にどれだけ溶出するかを測定する試験です。製剤の開発や品質管理に用いられるほか、ジェネリック医薬品の生物学的同等性試験などでも実施されています。溶出試験では、時間ごとに複数のベッセルから溶出液を採取し、分析を行います。手作業で行うサンプリングや希釈などの前処理過程においては、ヒューマンエラーが起きる可能性もあります。

Nexera FVはオンライン溶出試験用の超高速液体クロマトグラフです。溶出試験器と接続することにより試験液の分注、HPLC分析、レポート出力までの工程を自動化することができます。従来、オペレータが手作業で行っていた業務が省力化され、スループット向上が実現できます。

本稿では、サプリメントのオンライン溶出試験の流れと市販サプリメント2種類の測定例をご紹介します。なお、医薬品に対する溶出試験については、アプリケーションニュースL597およびL598をご参照ください。

■Nexera FVを用いたオンライン溶出試験

図1に、オンライン溶出試験における従来法とNexera FVのワークフロー比較例を示します。従来、手作業で行っていた指定時間での溶出液サンプリング、フィルタろ過、希釈、内部標準物質の添加、HPLC分析、レポート作成の工程を、オンラインで自動化することができます。また、専用ソフトウェアDT-Solutionを用いてHPLC分析の設定が手軽に行え(図2参照)、分析終了と同時に溶出率など複数のデータをまとめたレポート(図3参照)が作成されます。

Nexera FVには、溶出試験器から送られた溶出液を直接HPLCに注入するダイレクト注入モードと、溶出液を一旦バイアルに分画してから分析を行うフラクション分析モードがあります。前者は、実際のサンプリング時間までに分析が終わる超高速分析などの分析時間が短い場合に有効です。後者は、サンプリング間隔が短い試験や、希釈、内部標準物質の添加を行う場合などに用います。さらに、フラクション分析モードを用いて溶出液をバイアルに分画することにより、サンプリングの間にHPLC分析を行うことができます。その結果、今回の例では、全工程にかかる合計時間を30%削減することができます。



図2 DT-Solutionの設定画面



図3 マルチデータレポート*1画面

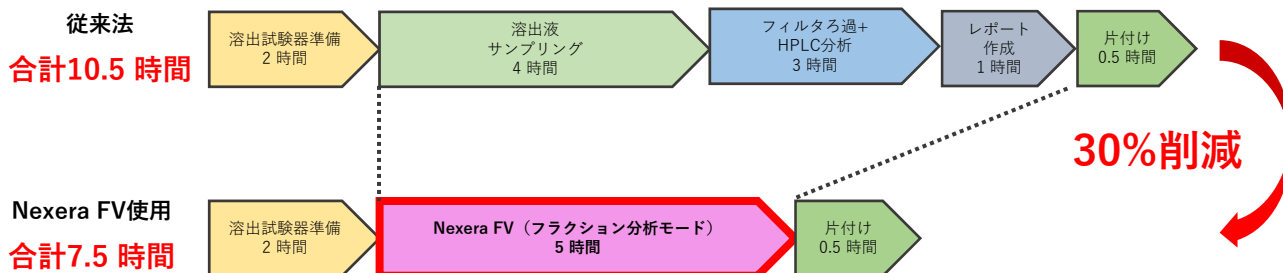


図1 オンライン溶出試験のワークフロー比較例*2

*1 マルチデータレポートはLabSolutions™DB/CSに対応したレポートの自動作成機能(オプション)です

*2 記載時間は、溶出試験4時間、HPLC分析2.5時間(1回3分の分析を50回実施)のα-リポ酸カプセルの例です

■ ビタミンB2（リボフラビン）の溶出試験

市販ビタミンB群タブレットを用い、リボフラビン（表示量 1錠あたり12 mg）の溶出試験を行いました。図4に溶出時間60分の溶出液のクロマトグラム、表1に溶出条件、表2にHPLC条件を示します。表3に10 mg/L標準溶液を用いたリボフラビンの保持時間および面積値再現性の結果、表4に各サンプリングポイントにおける溶出率、図5に溶出曲線を示します。

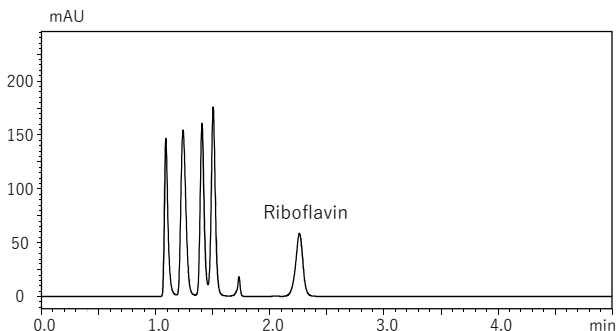


図4 ビタミンB群タブレット溶出液のクロマトグラム

表1 溶出条件（リボフラビン）

System	NTR-6600AST (TOYAMA SANGYO CO., LTD.)
Dissolution method	Paddle
Dissolution media	Water
Media volume	900 mL
Rotation speed	100 rpm
Bath temperature	37 °C
Total time	90 min
Sampling time	5, 10, 15, 20, 30, 45 and 60 min

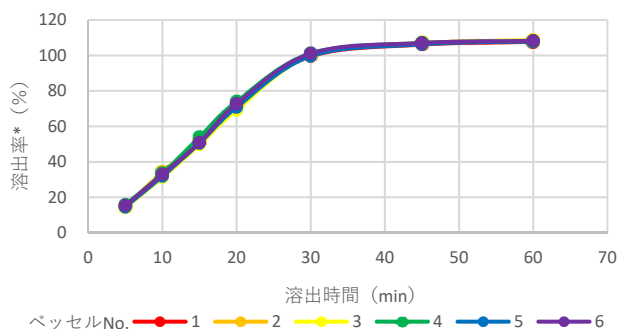
表2 HPLC条件（リボフラビン）

Column	Shim-pack™ VP-ODS ^{*1} (150 mm × 4.6 mm I.D., 5 μm)
Mobile phase	10 mmol/L (Sodium) phosphate buffer (pH2.6) / acetonitrile = 80 : 20
Flow rate	1.0 mL/min
Column temp.	40 °C
Injection vol.	10 μL
Vial	Shimadzu Vial, LC, 1.1 mL, Glass ^{*2}
Detection	UV 210 nm

* 1 P/N : 228-34937-91 * 2 P/N : 228-21283-91

表3 リボフラビンの保持時間および面積値再現性 (10 mg/L, n=6)

	Retention time (min)	Area
1 st	2.261	182371
2 nd	2.260	182342
3 rd	2.260	182192
4 th	2.260	182266
5 th	2.261	182251
6 th	2.262	182250
Average	2.261	182279
%RSD	0.0231	0.0364



* 溶出率 (%) = 濃度 (mg/L) × 試験液量 0.9(L) / 表示量 12(mg) × 100

図5 リボフラビンの溶出曲線

表4 リボフラビンの溶出率 (%)

Vessel No.	Time (min)	5	10	15	20	30	45	60
1		15.2	33.4	50.8	72.2	99.5	106.1	107.7
2		15.1	34.0	52.5	73.0	100.8	106.9	108.7
3		14.3	31.3	49.7	69.2	100.0	106.9	108.4
4		15.8	33.4	54.0	74.0	101.1	106.9	108.0
5		14.6	32.0	50.6	70.8	99.6	106.3	108.0
6		15.3	32.9	50.9	72.7	101.1	107.0	108.2
Average		15.0	32.8	51.4	72.0	100.3	106.7	108.2
%RSD		3.2	2.8	2.7	2.2	0.7	0.3	0.3

■ α-リポ酸の溶出試験

市販α-リポ酸カプセルを用い、α-リポ酸（表示量 1カプセルあたり105 mg）の溶出試験を行いました。溶出にはシンカーを使用しました。図6に溶出時間240分の溶出液のクロマトグラム、表5に溶出条件、表6にHPLC条件を示します。表7に100 mg/L標準溶液を用いたα-リポ酸の保持時間および面積値再現性の結果、表8に各サンプリングポイントにおける溶出率、図7に溶出曲線を示します。

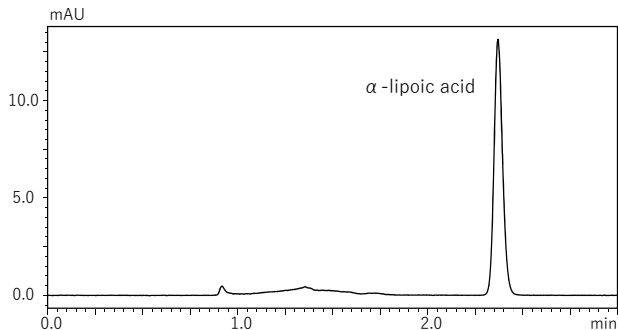


図6 α-リポ酸カプセル溶出液のクロマトグラム

表5 溶出条件 (α-リポ酸)

System	NTR-6600AST (TOYAMA SANGYO CO., LTD.)
Dissolution method	Paddle
Dissolution media	Water
Media volume	900 mL
Rotation speed	100 rpm
Bath temperature	37 °C
Total time	240 min
Sampling time	5, 10, 20, 30, 50, 90, 180 and 240 min

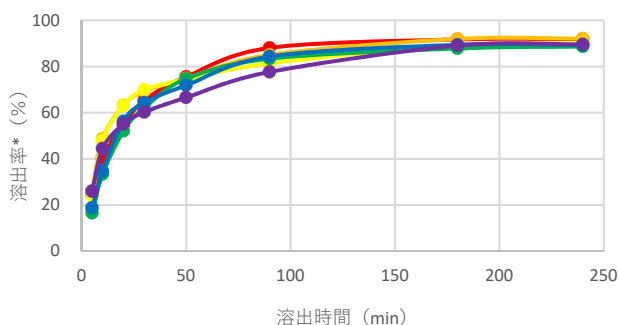
表6 HPLC条件 (α-リポ酸)

Column	Shim-pack VP-ODS ^{*1} (150 mm × 4.6 mm I.D., 5 μm)
Mobile phase	10 mmol/L (Sodium) phosphate buffer (pH2.6) / acetonitrile = 30 : 70
Flow rate	1.0 mL/min
Column temp.	40 °C
Injection vol.	10 μL
Vial	Shimadzu Vial, LC, 1.1 mL, Glass ^{*2}
Detection	UV 333 nm

* 1 P/N : S228-41600-91 * 2 P/N : 228-31537-91

表7 α-リポ酸の保持時間および面積値再現性 (100 mg/L, n=6)

	Retention time (min)	Area
1 st	2.368	39576
2 nd	2.370	39533
3 rd	2.369	39550
4 th	2.368	39719
5 th	2.368	39463
6 th	2.369	39566
Average	2.369	39568
%RSD	0.027	0.21



ベッセルNo. 1 2 3 4 5 6

* 溶出率 (%) = 濃度 (mg/L) × 試験液量 0.9(L) / 表示量 105(mg) × 100

図7 α-リポ酸の溶出曲線

■ まとめ

本稿では、Nexera FVを用いた2種類のサプリメントのオンライン溶出試験についてご紹介いたしました。どちらの成分についても良好な分離、再現性が得られることを確認し、医薬品と同様の溶出試験を手軽に行うことができました。

表8 α-リポ酸の溶出率 (%)

Vessel No.	Time (min)	5	10	20	30	50	90	180	240
1		24.3	40.6	54.9	65.3	75.5	88.1	91.7	91.9
2		26.2	48.8	63.2	69.3	74.8	85.0	91.9	92.1
3		24.0	47.9	63.0	69.9	74.3	81.4	89.1	90.1
4		16.6	33.4	52.0	62.1	74.6	83.4	87.8	88.6
5		18.8	34.7	56.3	64.4	71.8	84.3	89.4	89.3
6		18.8	34.7	56.3	64.4	71.8	84.3	89.4	89.3
Average		21.4	40.0	57.6	65.9	73.8	84.4	89.9	90.2
%RSD		16.5	15.8	7.2	4.3	2.0	2.4	1.6	1.5

Nexera、LabSolutionsおよびShim-packは、株式会社 島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

株式会社 島津製作所

分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

01-00031 初版発行：2021年 6月

島津コールセンター ☎ 0120-131691

本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

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。

改訂版は会員制サイト Solutions Navigator で閲覧できます。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>
閲覧には、会員制情報サービス Shim-Solutions Club に登録ください。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

© Shimadzu Corporation, 2021