

Application News

No. L448

高速液体クロマトグラフィー
High Performance Liquid Chromatography

“Nexera” を活用した USP621 準拠による イブプロフェン分析の高速化

Ultra-High Speed Analysis of Ibuprofen within USP621 Allowed Limits by Nexera

近年、分析業務の効率化や生産性の向上を目的とした分析のハイスループット化が進展してきており、HPLCにおいても超高速 LC や充てん剤微粒子化カラムを用いた超高速分析技術が注目されています。昨今改定された米国薬局方のジェネラルチャプター 621（以下 USP 621）は、システム適合性要件を満たした場合のみ HPLC や GC パラメータの変更を認めています。

ここでは超高速液体クロマトグラフ “Nexera” とコンベンショナルカラム “Shim-pack VP-ODS” および Core-Shell 型高速分析用カラム “Kinetex XB-C18 シリーズ” を用いて、USP-NF¹⁾ に記載されているイブプロフェンの類縁物質分析を USP 621 に準拠して高速化した例をご紹介します。

T. Yamaguchi H. Terada

■ HPLC パラメーターの変更許容範囲

Allowed HPLC Adjustment

Table 1 に USP 621 に記載されている LC パラメータの変更許容範囲を示します。本チャプターにはカラム長さ、粒子径および流速など各種パラメータの具体的な変更許容範囲が示されており、これら範囲内におけるメソッド変更は単なるメソッドの調整と見なされ、メソッド変更後に再バリデーションを行う必要がありません。

Table 1 USP 621 における HPLC の変更許容範囲
Allowed HPLC Adjustment in USP 621

	USP General Chapter <621>
カラム長さ	±70%の変更が可能
カラム内径	線速度が同一であれば変更は可能
粒子径	最大50%までの減少が可能。ただし増加は不可
流速	±50%の変更が可能
カラム温度	±10℃の変更が可能
注入量	システム適合性要件を満たせば変更は可能
pH	±0.2の変更が可能
UV波長	±3 nmの変更が可能
塩濃度	±10%の変更が可能
移動相組成	±30%もしくは絶対量±10%のうち少ない方を 選択

Table 2 分析条件
Analytical Conditions

System	: Nexera Method Scouting
Column	: ① Shim-pack VP-ODS (250 mm L. × 4.6 mm I.D., 4.6 μm) ② Kinetex XB-C18 (100 mm L. × 4.6 mm I.D., 2.6 μm)
Mobile Phase	: A: 1% (wt/v) Chloroacetic Acid Water (pH 3.0 adjusted with ammonium hydroxide) B: Acetonitrile A/B = 2/3 (v/v)
Flow Rate	: 2.0 mL/min
Column Temp.	: 30 °C
Injection Vol.	: ① 5 μL ② 1 μL
Detection	: SPD-20AV at 254 nm

■ 超高速分析用カラムによるイブプロフェン類縁物質分析の高速化

High Speed Analysis of Impurities in Ibuprofen with UHPLC Column

イブプロフェンは非ステロイド系抗炎症剤 (NSAIDs) の一種で、解熱や鎮痛剤として使用されています。USP-NF¹⁾ には USP カラムカテゴリー L1 (C18) に属するコンベンショナルカラムを用いたイブプロフェンの類縁物質に関するモノグラフが記載されており、イブプロフェンとその分解物である 4-イソブチルアセトフェノン、バレロフェノン (内部標準物質) の 3 成分の分析法とシステム適合性について記載されています。

本稿では USP621 に準拠して USP-NF 記載のイブプロフェンの類縁物質の分析時間の短縮について検討しました。分離カラムには Table 1 に示した USP621 の変更許容範囲に収まる高速分析用カラム “Kinetex XB-C18” (100 mm L. × 4.6 mm I.D., 2.6 μm) を選択し、カラム以外は USP-NF 記載条件と同一としました。Fig. 1 にはコンベンショナルカラム “Shim-pack VP-ODS” と “Kinetex XB-C18” を用いてイブプロフェン、4-イソブチルアセトフェノン、バレロフェノンを分析した例を、Table 2 には各々の分析条件を示しました。“Kinetex XB-C18” を用いることにより、分離を損なうことなく分析時間と溶媒消費量を約 1/4 に短縮することができました。また次頁の Table 3 にはシステム適合性試験の結果を示しました。今回の “Kinetex XB-C18” を用いた検討では全てのシステム適合性を満たしていることが分かります。

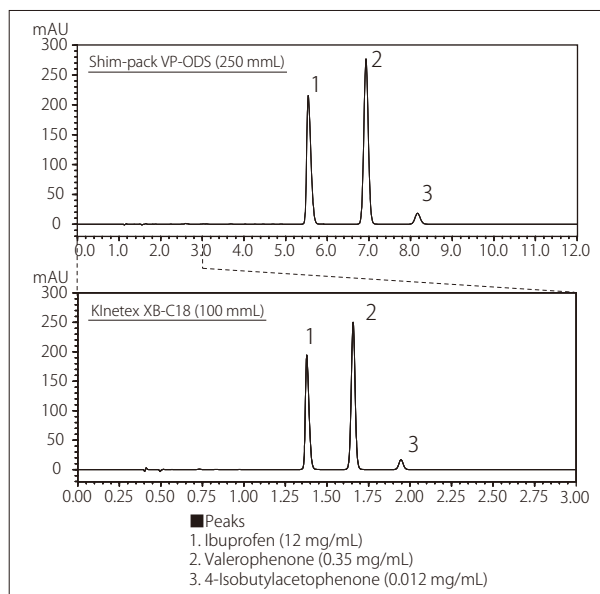


Fig. 1 Shim-pack VP-ODS と Kinetex XB-C18 シリーズの比較
-イブプロフェン類のクロマトグラム -
Comparison of the Shim-pack VP-ODS and Kinetex XB-C18 Series
-Chromatograms of a Standard Mixture of Ibuprofen,
4-Isobutylacetophenone and Valerophenone -
Upper: Shim-pack VP-ODS (250 mmL)
Lower: Kinetex XB-C18 (100 mmL)

Table 3 USP 621 における HPLC の変更許容範囲
Allowed HPLC Adjustment of USP 621

システム適合性項目		基準値	USP同等条件	高速化条件
			ShimPack VP-ODS	Kinetex XB-C18
相対保持時間	Valerophenone (Ibuprofen を1.0として)	1.4	1.3	1.2
	4-Isobutylacetophenone (Valerophenone を1.0として)	1.2	1.2	1.2
分離度	Ibuprofen と Valerophenone	≥2.5	7.05	6.17
	Valerophenone と 4-Isobutylacetophenone	≥2.5	5.60	5.82
シンメトリ係数	Ibuprofen	≤2.5	1.44	1.37
	Valerophenone	≤2.5	1.04	1.05
	4-Isobutylacetophenone	≤2.5	1.04	1.04
相対標準偏差 RSD(%)	Ibuprofen	保持時間	≤2.0	0.028
		ピーク面積値	≤2.0	0.030
	Valerophenone	保持時間	≤2.0	0.032
		ピーク面積値	≤2.0	0.026
4-Isobutylacetophenone	保持時間	≤2.0	0.036	
	ピーク面積値	≤2.0	0.033	

■イブプロフェンの類縁物質試験

Impurities Test of Ibuprofen

医薬品に含まれる不純物は製品の安定性、機能性および有効性などの品質に影響を及ぼす可能性があるため、厳密な不純物の管理が要求されています。

USP-NF¹⁾ におけるイブプロフェンの類縁試験では、イブプロフェン分解物である4-イソブチルアセトフェノン含量が全体の0.1%以下になるよう管理することが求められています。

Fig. 2 にはイブプロフェン溶液 (12 mg/mL) を紫外可視吸光度検出器 (SPD-20AV) で分析した結果と、約0.5分から2分までを拡大したクロマトグラムを示します。また、Table 4 にはその分析条件を示します。幅広いダイナミックレンジを有するSPD-20AVにより、微細なピークを見逃すことなく高分離且つ高感度に検出できていることがわかります。

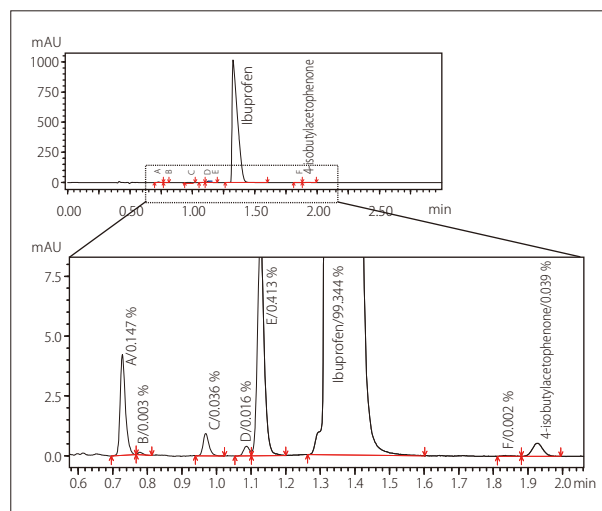


Fig. 2 イブプロフェンのクロマトグラム
Chromatograms of Ibuprofen and Impurities

Table 4 分析条件
Analytical Conditions

System	: Nexera
Column	: Kinetex XB-C18 (100 mm L. × 4.6 mm I.D., 2.6 μm)
Mobile Phase	: A: 1% (wt / v) Chloroacetic Acid Water (pH 3.0 adjusted with ammonium hydroxide) B: Acetonitrile A/B = 2/3 (v/v)
Flow Rate	: 2.0 mL/min
Column Temp.	: 30 °C
Injection Vol.	: 10 μL
Detection	: SPD-20AV at 254 nm

[参考情報]

- 1) U.S. Pharmacopeia 35-NF 30, 2012
 • General Chapter <621>
 • Official Monograph "Ibuprofen"