

Application News

No.L457A

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

医薬品中のイオン分析 (その4) イオンクロマトグラフィーによるカウンター陰イオンの分析

Ion Analysis in Drugs (Part 4) Determination of Counterions (Anions) by Ion Chromatography

アプリケーションニュース No.L387では、イオンクロマトグラフィーを用いた医薬品中のカウンターイオンと不純物イオンの分析例をご紹介しました。カウンターイオンの違いにより、医薬品有効成分 (Active Pharmaceutical Ingredients : API) としての物理化学的・薬物動態的な性質が変わるため、医薬品開発段階では様々なカウンターイオンが選択され、最適な塩が選択されています。また、合成段階で使用する触媒やイオンなどの無機不純物の残存が製品の溶解性や安定性などに影響を及ぼすことがあり、不純物としてイオンを分析することも非常に重要です。合成された API から不純物を取り除くために、一般的に HPLC を用いた分取・精製が行われており、その移動相には後処理の容易さから酢酸、ギ酸、トリフルオロ酢酸やその塩が添加物として使用されています。また、ペプチドの固相合成では、合成したペプチドの固相からの切り離しにトリフルオロ酢酸が使われており、トリフルオロ酢酸が主成分ペプチドのカウンターイオンとなります。多くの場合、その後、酢酸や塩化物イオンにより塩置換されて使用されます。よって、これらのイオンが API のカウンターイオンや不純物イオンとなることがあります。

ここでは、医薬品中の酢酸、ギ酸、塩化物とトリフルオロ酢酸イオンの分析例をご紹介します。

M. Horiuchi

■微量陰イオンの分析

Analysis of Anions

酢酸、ギ酸、塩化物イオンとトリフルオロ酢酸 (TFA) イオンの低濃度分析を行いました。得られた標準溶液のクロマトグラムを Fig. 1 に示します。その保持時間および面積値の再現性 (n=6) を Table 1, 分析条件を Table 2 に示します。

Table 1 再現性
Repeatability

	Conc (mg/L)	R.T. %RSD	Area %RSD
Acetate	2.5	0.05	0.54
Formate	2.5	0.04	0.68
Chloride	0.5	0.03	0.78
TFA	10	0.02	0.85

Table 2 陰イオン分析条件
Analytical Conditions

Column	: Shim-pack IC-A3 (150 mm L.x4.6 mm I.D.)
Mobile Phase	: A : 8.0 mmol/L <i>p</i> -Hydroxybenzoic acid 3.2 mmol/L Bis-Tris 50 mmol/L Boric acid B : Acetonitrile A : B = 95 : 5 (v/v)
Flow Rate	: 1.2 mL/min
Column Temp.	: 40 °C
Injection Volume	: 50 µL
Detection	: Conductivity (Non-suppressor mode)

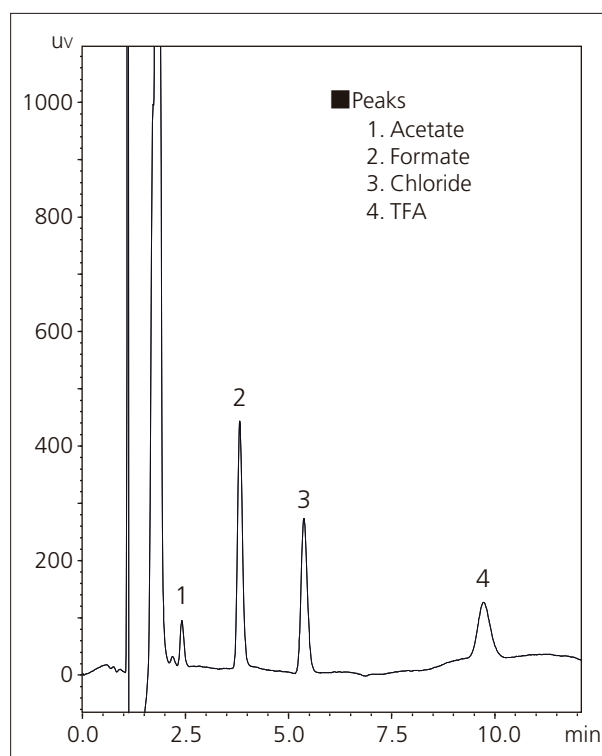


Fig. 1 陰イオン標準溶液4成分のクロマトグラム
Chromatogram of a Standard Mixture

■ 検量線の直線性

Linearity of Calibration Curve

酢酸、ギ酸イオンが 2.5 ~ 20 mg/L, 塩化物イオンが 0.5 ~ 4 mg/L, TFA イオンが 5 ~ 40 mg/L の濃度範囲で, 4 点の混合標準溶液を調製し, 電気伝導度検出器を用いて作成した検量線を Fig. 2 に示します。

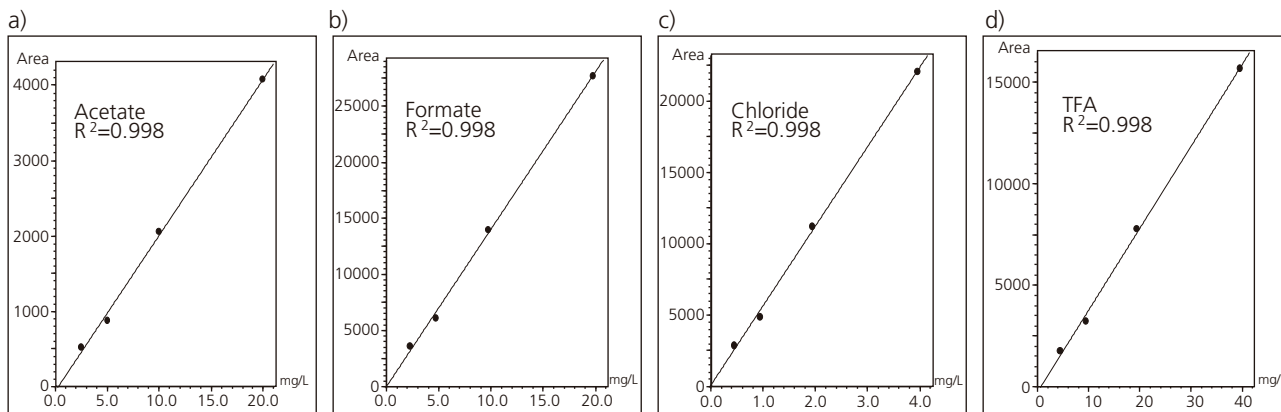


Fig. 2 検量線の直線性
a) 酢酸, b) ギ酸, c) 塩化物イオン, d) TFA
Linearity of Calibration Curve
a) Acetate, b) Formate, c) Chloride, d) TFA

■ カウンターイオンの分析

Analysis of Counterions

Fig. 3 に酢酸を含むヒドロキソコバラミンの標準溶液 (70 mg/L: 0.05 mmol/L) を分析した例を示します。カウンターイオンである酢酸イオンの定量値は 3.5 mg/L (0.06 mmol/L) でした。主成分とカウンターイオンのモル比はヒドロキソコバラミン: 酢酸イオン = 1:1.2 でした。

Fig. 4 に TFA を含むアンジオテンシン I の標準溶液 (65 mg/L) を分析した例を示します。カウンターイオンである TFA イオンの定量値は 23 mg/L (0.2 mmol/L) でした。

主成分とカウンターイオンのモル比はアンジオテンシン I : TFA イオン = 1 : 6.2 でした。

また, 各標準溶液を繰り返し分析したときの面積値の再現性 (n=6) はヒドロキソコバラミン中の酢酸が 0.52 %, アンジオテンシン I 中の TFA が 1.15 % と良好でした。なお, 分析条件は Table 2 に示します。

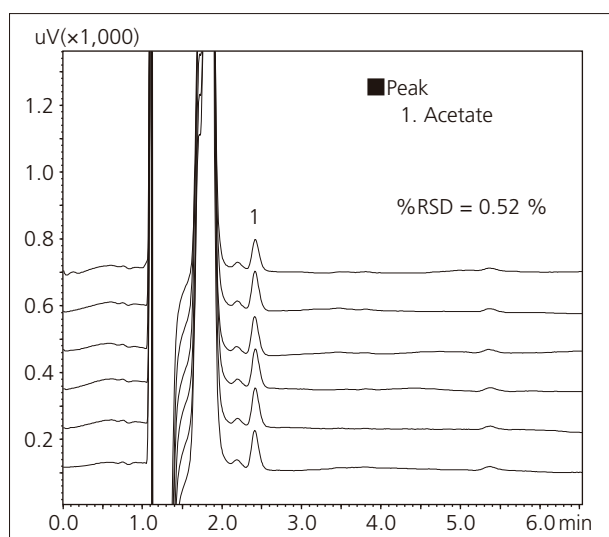


Fig. 3 ヒドロキソコバラミン酢酸塩のクロマトグラム
Chromatogram of Hydroxocobalamin Acetate

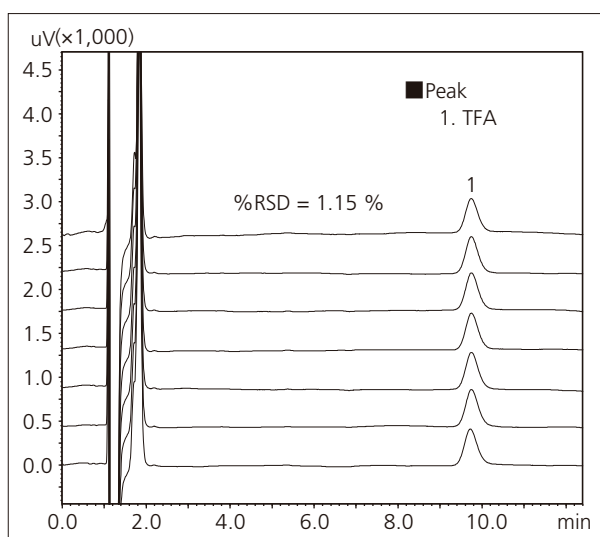


Fig. 4 アンジオテンシン I TFA 塩のクロマトグラム
Chromatogram of Angiotensin I (TFA)

A改訂版発行: 2014年4月

初版発行: 2014年3月

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

島津コールセンター ☎ 0120-131691
(075)813-1691

※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。
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制Webの閲覧だけでなく, いろいろな情報サービスが受けられます。

3100-03401-525-1K
2014.3