

Application News

No. L478

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

“Prominence-i”のコアシェルカラムによる 医薬品不純物分析と高速化

High Speed Analysis of Impurities of Pramipexole Dihydrochloride by “Prominence-i”

高分離、高感度なクロマトグラムを得るためには、充填剤の粒子径の小さいカラムを用いることで達成されますが、粒子径が小さい程、カラムにかかる圧力が高くなります。コアシェルカラム“Kinetex 5 μm”は5 μm 粒子径と同程度のカラム圧力で、より高い分解能を達成することが可能です。これにより、汎用の LC システムでも高分離、高感度なクロマトグラムを得ることができます。

ここでは、一体型高速液体クロマトグラフ“Prominence-i”にコアシェルカラム“Kinetex 5 μm”を適応し、医薬品の類縁物質の分析と EP（欧州薬局方）に準拠して分析の高速化を図った例をご紹介します。

N. Iwata

■ コアシェルカラム “Kinetex 5 μm” を用いた プラミペキソール塩酸塩類縁物質の分析

Analysis of Impurities of Pramipexole Dihydrochloride with Core-shell Column “Kinetex 5 μm”

パーキンソン病の治療薬として知られるプラミペキソール塩酸塩は神経伝達物質のドーパミンを補充する薬として使用されています。

ここでは EP に基づき、プラミペキソール塩酸塩の標準溶液（1.5 mg/mL）を Table 1 の分析条件で測定しました¹⁾。Fig. 1 の (a) にはコアシェルカラム“Kinetex 5 μm”を、(b) には“Shim-pack VP-ODS”を用いた結果を示します。下段は3～10分まで拡大したクロマトグラムです。コアシェルカラム“Kinetex 5 μm”を用いることで、主成分の高感度化、および、Fig. 1 の丸印で示したピークを分離することができました。さらに、主成分の溶出時間は“Shim-pack VP-ODS”より約2分早くなっています。

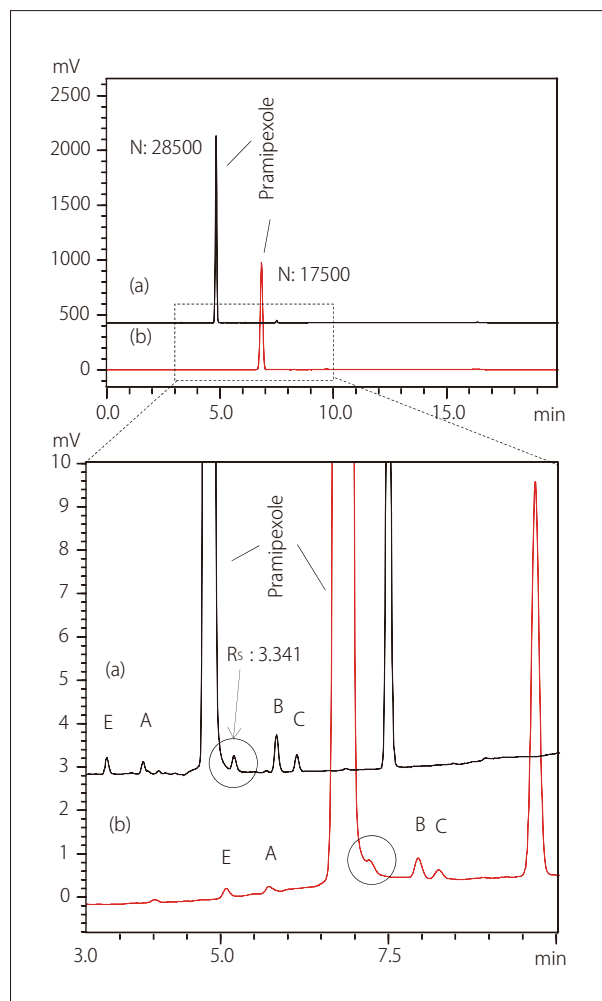


Fig. 1 (a) コアシェルカラム “Kinetex 5 μm” と (b) “Shim-pack VP-ODS” の比較 - プラミペキソール塩酸塩のクロマトグラム -
Comparison of (a) Core-shell Column “Kinetex 5 μm” and (b) “Shim-pack VP-ODS”
-Chromatograms of Pramipexole Dihydrochloride-

Table 1 分析条件
Analytical Conditions

Column (1)	: Kinetex 5μ C18 100A (150 mm L × 4.6 mm I.D., 5 μm)
Column (2)	: Shim-pack VP-ODS (150 mm L × 4.6 mm I.D., 5 μm)
Flow Rate	: 1.5 mL/min
Mobile Phase	: A) 67 mmol/L Phosphate (Potassium) Buffer (pH 3.0) Containing 21 mmol/L 1-Octanesulfonic Acid Sodium Salt B) Solution A / Acetonitrile (1/1)
Time program	: B Conc. 40 % (0 min) → 80 % (15 min) → 40 % (15.1 - 20 min)
Column Temp.	: 40 °C
Injection Volume	: 5 μL
Detection	: LC-2030C at 264 nm
Flow Cell	: Conventional Cell for Integrated

■ 他社 LC システムとの分離互換性

Compatible with Other Company LC System

“Prominence-i”は他社 LC システムと分離互換性を有しています。ここでは前項と同様、プラミペキソール塩酸塩の標準溶液（1.5 mg/mL）を Table 1 の分析条件（カラム (1) 使用）で測定しました。Fig. 2 の上段には“Prominence-i”で採取したクロマトグラムを、下段にはそれぞれ (a) 他社 LC システム、および、(b) “Prominence-i”で採取した拡大図を示します。Fig. 2 に示した、他社 LC システムと“Prominence-i”の結果によれば、クロマトグラム分離の互換性を有していることがわかります。

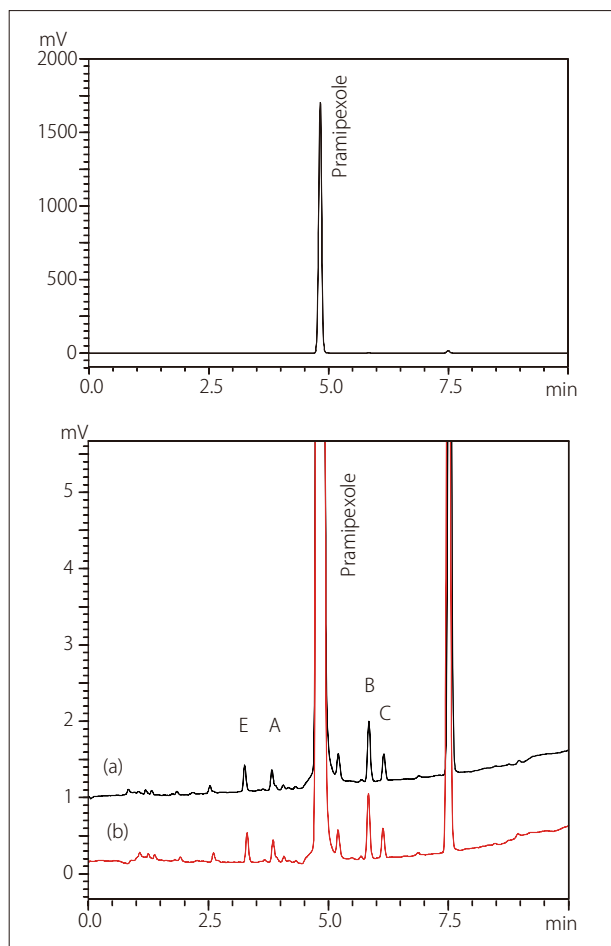


Fig. 2 プラミペキソール塩酸塩のクロマトグラム
上段：“Prominence-i”
下段：拡大図 (a) 他社 LC システム, (b) “Prominence-i”
Chromatograms of Pramipexole Dihydrochloride
Upper: “Prominence-i”
Lower: Enlarged Figures of (a) Other Company LC System, (b) “Prominence-i”

■ プラミペキソール塩酸塩類縁物質の高速化 High Speed Analysis of Impurities of Pramipexole Dihydrochloride

EP に準拠してプラミペキソール塩酸塩の類縁物質の高速化を検討しました。Table 2 に EP に収載されている HPLC パラメータの変更許容範囲を示します²⁾。

Table 2 EP 収載の HPLC の変更許容範囲
Adjustment of HPLC Conditions in EP

項目	許容範囲
移動相組成 (マイナー成分)	± 30 %もしくは絶対量± 2 %のうち大きい方を選択 (その他の成分) 絶対量± 10 %の変更が可能
pH	± 0.2 %の変更が可能
塩濃度	± 10 %の変更が可能
UV 波長	変更不可
カラム内径	± 25 %の変更が可能
粒子径	最大 50 %までの減少が可能, 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 (Max 60 °C)
注入量	システム適合性を満たせば変更は可能

Fig. 3 にプラミペキソール塩酸塩の標準溶液 (1.5 mg/mL) を Table 2 の許容範囲を満たす, Table 3 の分析条件で測定した結果を示します。下段は 1 ~ 3 分まで拡大したクロマトグラムです。高速化に際し, オプションの “低遅れ容量システムキット” を用い, カラムは高速分析用カラムのコアシェルカラム “Kinetex 2.6 μm” を用いました。主成分の溶出位置はコアシェルカラム “Kinetex 5 μm” を用いた場合より, 約 3 分早く溶出しています。

また, Table 4 のシステム適合性試験の結果より, EP に準拠した条件, および, 高速化条件においてもシステム適合性を満たしていることがわかります。

Table 3 分析条件 - 高速化 -
Analytical Conditions -High Speed Analysis-

Column	: Kinetex 2.6μ C18 100A (75 mm L × 4.6 mm I.D., 2.6 μm)
Flow Rate	: 2.0 mL/min
Mobile Phase	: A) 67 mmol/L Phosphate (Potassium) Buffer (pH 3.0) Containing 21 mmol/L 1-Octanesulfonic Acid Sodium Salt B) Solution A / Acetonitrile (1/1)
Time program	: B Conc. 40 % (0 min) → 80 % (5.63 min) → 40 % (5.64 - 8.63 min) On-time injection: 230 μL
Column Temp.	: 40 °C
Injection Volume	: 2 μL
Detection	: LC-2030C at 264 nm
Flow Cell	: High-speed High-sensitivity Cell

Table 4 システム適合性結果
Result of System Suitability Test in EP

システム適合性項目	基準値	EP同等条件	高速化条件	判定
分離度 impurity AとPramipexole	≥6.0	8.2	9.7	PASS

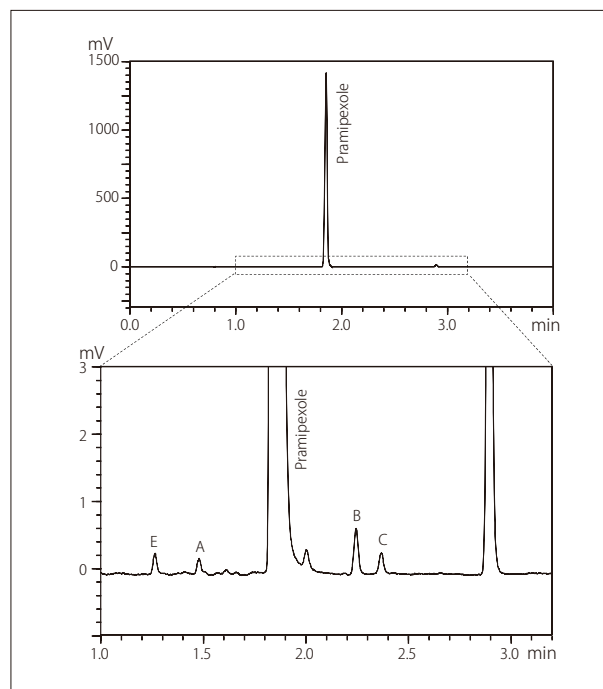


Fig. 3 プラミペキソール塩酸塩のクロマトグラム - 高速化 -
(低遅れ容量システムキット使用)
Chromatograms of Pramipexole Dihydrochloride
-High Speed Analysis-
(with Delay Volume-Compatible System Kit)

【参考文献】

- 1) E. Pharmacopoeia 01/2012: 2416 “Pramipexole Dihydrochloride”
- 2) E. Pharmacopoeia 01/2008: 20246 General Chapters
2. 2. 46. Chromatographic separation technique