

Application News

No. L489

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

示差屈折率検出器 “RID-20A” を用いた マンニトールの分析

Analysis of Mannitol by Defferential Refractive Index Detector “RID-20A”

マンニトールは低吸湿性、低反応性という特徴を持つため、医薬品の賦形剤として近年利用されています。2014年2月に告示された第十六改正日本薬局方第二追補にD-マンニトール（以下マンニトール）の試験法が追加されました¹⁾。この試験法において、マンニトールの定量法に示差屈折率検出器を用いた HPLC 法が採用されています。

示差屈折率検出器 “RID-20A” は光学系を二重温調することによって、微妙な温度変化の影響を吸収し、安定したベースラインを得ることが可能です。

ここでは、“RID-20A” を用いたマンニトールの分析例を紹介します。

M. Horiuchi

■ システム適合性

System Suitability

Fig. 1 にマンニトールの構造式を示します。マンニトールの試験法では2種類のシステム適合性試験用標準溶液を分析します。Fig. 2 上段にシステム適合性試験用標準溶液1であるイソマルト、マルチトールの標準品（各1g/L）のクロマトグラムを、Fig. 2 下段にシステム適合性試験用標準溶液2であるマンニトール、ソルビトールの標準品（各25g/L）のクロマトグラムを示します。Table 1 に分析条件を示します。

Table 2 にシステム適合性試験の基準値および分析結果を示します。全ての項目においてシステム適合性を満たしていることがわかります。

Table 1 分析条件
Analytical Conditions

| | |
|------------------|--|
| System | : Prominence |
| Column | : Shim-pack SCR-101C (300 mm L. × 7.9 mm I.D., 10 μm) |
| Mobile Phase | : Water |
| Flow Rate | : 0.5 mL/min |
| Column Temp. | : 85 °C |
| Injection Volume | : 20 μL |
| Detection | : RID-20A |

Table 2 システム適合性試験結果
Results of System Suitability Test

| システム適合性評価項目 | 対象成分 | 基準値 | 分析結果 |
|--------------------------|-------------------|----------|--------|
| 保持時間 | マンニトール | 約 20 分 | 20.9 分 |
| マンニトールに対する 他成分の相対保持時間 | イソマルト (1) | 約 0.6 | 0.68 |
| | マルチトール | 約 0.69 | 0.73 |
| | イソマルト (2) | 約 0.73 | 0.76 |
| | ソルビトール | 約 1.2 | 1.2 |
| 分離度 | マンニトールと ソルビトール | 2.0 以上 | 5.0 |
| ピーク面積値の 相対標準偏差 | マンニトール | 1.0 % 以下 | 0.03 % |

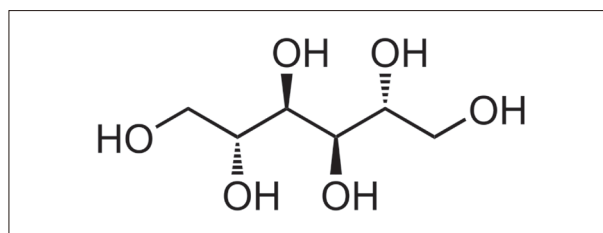


Fig. 1 D-マンニトールの構造
Structure of D-Mannitol

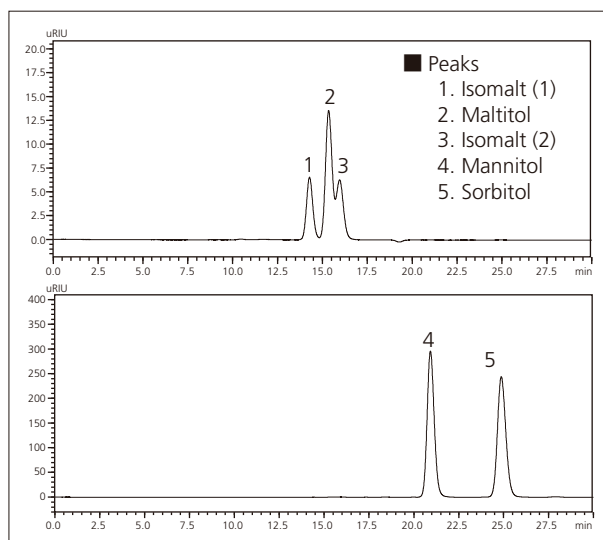


Fig. 2 糖アルコール4成分のクロマトグラム
上段：システム適合性溶液1（イソマルト、マルチトール）
下段：システム適合性溶液2（マンニトール、ソルビトール）
Chromatograms of a Standard Mixture of Four Sugar Alcohols
Upper: System Suitability Solution1 (Isomalt, Maltitol)
Lower: System Suitability Solution2 (Mannitol, Sorbitol)

■直線性

Linearity

Fig. 3 に Table 1 の条件で分析したマンニトールの検量線を示します。濃度範囲 1-100 g/L の間で寄与率 (R^2)0.999 以上と良好な直線性を示しました。

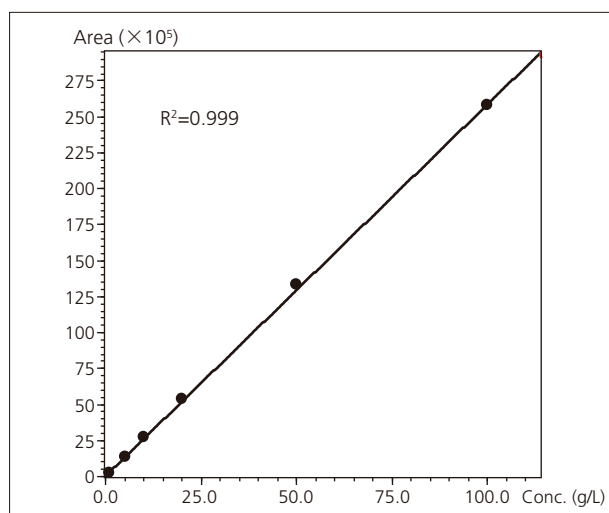


Fig. 3 検量線の直線性
Linearity of Calibration Curve

■カラム温度の効果

Effect of Column Temperature

Fig. 4 にカラム温度がそれぞれ 85 °C, 60 °C の条件で分析した糖アルコール 4 成分標準品のクロマトグラムを示します。上段にはイソマルト, マルチトールのクロマトグラムを, 下段には, マンニトール, ソルビトールのクロマトグラムを示します。カラム温度が 60 °C になると, マンニトールの保持時間は 23 分となり, システム適合性評価項目を満たさなくなりました。

85 °C のような高温の分析では, カラム全体の温度を均一に保つことが重要です。本分析に用いたカラムオープン CTO-20AC は空気循環式を採用しているため, 高温でも安定して分析することが可能です。

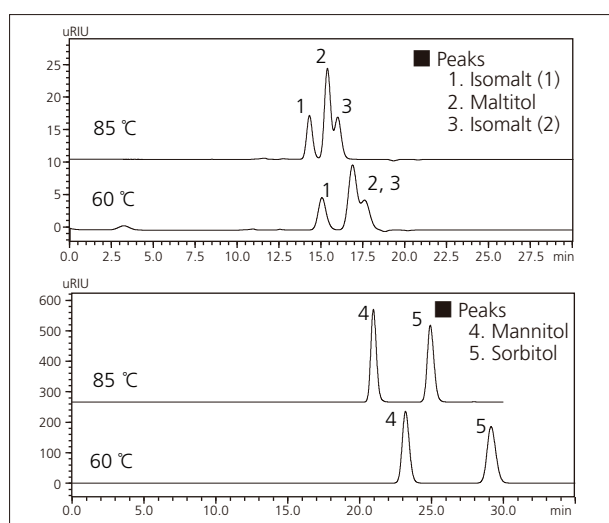


Fig. 4 糖アルコール 4 成分のクロマトグラム (85 °C, 60 °C)
Chromatograms of a Standard Mixture of Four Sugar Alcohols

■医薬品賦形剤の分析

Analysis of Pharmaceutical Excipient

Fig. 5 にマンニトールを主成分とした医薬品賦形剤の分析例を示します。50 g/L の試料溶液を 20 μ L 注入しました。上段には医薬品賦形剤のクロマトグラムを, 下段にはそのクロマトグラム拡大図を示します。医薬品賦形剤からはマンニトールの他, 微量のソルビトールやイソマルトが検出されました。

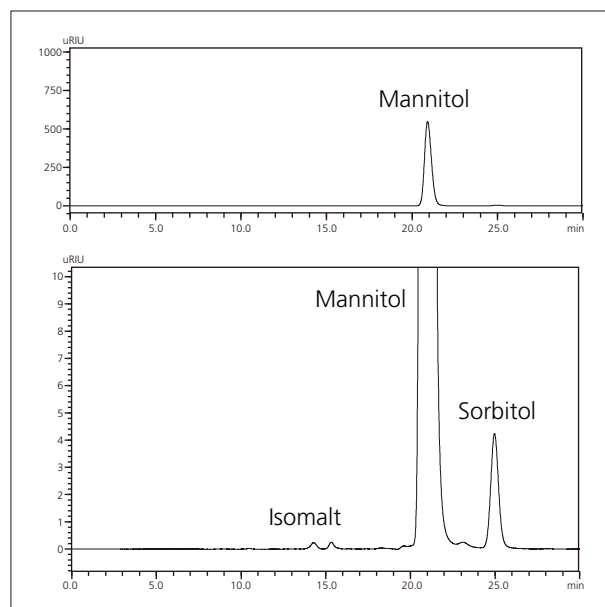


Fig. 5 医薬品賦形剤のクロマトグラム
上段: 全体図
下段: 拡大図
Chromatogram of Pharmaceutical Excipient
Upper: Chromatogram
Lower: Expanded Chromatogram

参考文献

- 1) 第十六改正日本薬局方第二追補
(厚生労働省告示第 47 号 平成 26 年 2 月 28 日)

本アプリケーション作成に用いました試料は日本ジェネリック様よりご提供いただきました。