

Application News

No. L534

高速液体クロマトグラフィー

次世代型LCカラム“Shim-pack Arata™ C18”を用いた医薬品の不純物分析

一般的なオクタデシルシリル化 (Octadecyl Silyl; 以下 ODS) シリカゲルを充てんしたカラムで塩基性化合物を分析する際、ピーク形状により分析精度に影響を及ぼすことが知られています。近年は、分離性能の高い ODS カラムが多数商品化されています。しかし塩基性化合物向けのカラムにおいても、対象化合物の物性によってテーリング等が生じる場合があります。また、0.1% 塩酸水溶液等の希薄酸性移動相条件下では、カラムの平衡化に時間を要するなどの課題があります。カラムの平衡化が不十分な場合、保持時間が経時的に変動するため、安定して分離を確保することが困難となります。Shim-pack Arata C18 はこれら多くの課題を解決するために開発されたカラムです。イオン性化合物であっても、単純な系の移動相で良好なピーク形状が得られ、より精度の高い分析を期待することができます。

本稿では、Shim-pack Arata C18 カラムを用いて塩基性化合物と酸性化合物とを良好なピーク形状を保ったまま、安定して分析できることを示すとともに、医薬品の不純物分析へ応用した例を紹介いたします。

A. Nomura, T. Yamaguchi

■ 塩基性化合物と酸性化合物の分析

塩基性化合物のピーク形状が悪化しやすいと考えられる希薄有機酸移動相 (0.1% 塩酸水溶液) 条件により、塩基性化合物と酸性化合物を分析しました。塩基性化合物として三環系抗うつ薬のアミトリプチリンを、酸性化合物として安息香酸を用いました。標準溶液を移動相にて各 100 mg/L になるよう調製し、表 1 に示した条件で分析しました。

得られたクロマトグラムを図 1 に示します。各ピークのシンメトリー係数はアミトリプチリンが 1.01、安息香酸が 1.00 となり、塩基性化合物と酸性化合物双方ともにピーク形状は良好です。

表 1 分析条件

System	: Nexera™ X2
Column	: Shim-pack Arata C18 (75 mm L. × 3.0 mm I.D., 2.2 μm) (図 1、3) Typical ODS (75 mm L. × 3.0 mm I.D., sub-2 μm) (図 2)
Mobile Phase	: 0.1% Formic acid in water/Acetonitrile = 70/30(v/v)
Flow Rate	: 0.4 mL/min
Injection Vol.	: 1 μL
Column Temp.	: 40 °C
Detection	: SPD-M30A at 254 nm (図 1) SPD-M30A at 280 nm (図 2、3)

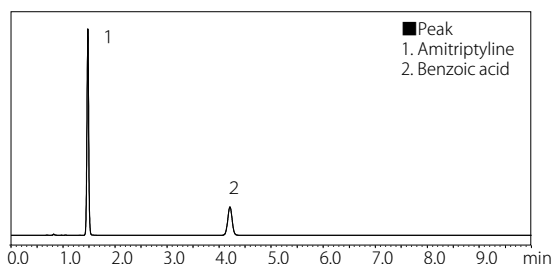


図 1 Shim-pack Arata C18カラムによる塩基性化合物 (アミトリプチリン) と酸性化合物 (安息香酸) のクロマトグラム

■ 通液時間による保持時間及びシンメトリー係数の変動

一般的な ODS カラムにおいて、0.1% 塩酸水溶液等の希薄有機酸移動相条件で分析する場合、保持時間が安定 (平衡化) するまでに時間を要することがあります。希薄有機酸移動相条件下で平衡化に必要な時間を、塩基性医薬品であるデキストロメトルファンとアミトリプチリンで評価しました。

<分析方法>
カラムは、一般的な ODS カラム (新品、封入溶媒: アセトニトリル) と Shim-pack Arata C18 カラム (新品、封入溶媒: アセトニトリル) を用いました。コンディショニングせずに移動相を送液し、一定時間毎に標準溶液を分析しました。分析条件を表 1 に示します。標準溶液は、各成分 100 mg/L になるように移動相で調製しました。

<結果>
図 2 に一般的な ODS カラムの、図 3 に Shim-pack Arata C18 カラムを用いた場合のクロマトグラムの推移を示します。

一般的な ODS カラムでは、約 720 分通液しても保持時間は安定せず、シンメトリー係数は、デキストロメトルファンが 2.49、アミトリプチリン 3.90 でした。一方 Shim-pack Arata C18 カラムでは、通液後約 30 分で保持時間は一定となり、かつシンメトリー係数はデキストロメトルファンが 1.19、アミトリプチリンは 1.07 でした。その後も保持時間、シンメトリー係数はほぼ変化しませんでした。この結果から、Shim-pack Arata C18 カラムが希薄有機酸移動相条件で優れたピーク形状を維持しつつ、迅速な平衡化を可能とすることが分かります。このことより、LC/MS (MS) 分析においても卓越した安定性を発揮することが期待されます。

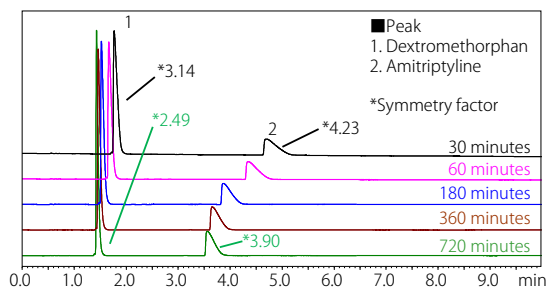


図 2 一般的な ODS カラムを用いたデキストロメトルファンとアミトリプチリンのクロマトグラムの推移

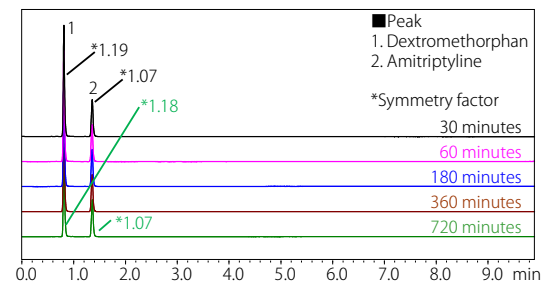


図 3 Shim-pack Arata C18カラムを用いたデキストロメトルファンとアミトリプチリンのクロマトグラムの推移

■ 医薬品原薬における不純物試験への適用

医薬品原薬の不純物試験は医薬品製造過程において重要な試験の1つで、その試験法で用いられる HPLC カラムには、高い信頼性や分析精度が求められます。

<分析方法>

モデルサンプルには、100 mg/L になるよう移動相で調製したアミトリプチリンを使用しました。移動相に 0.1% リン酸水溶液を用い、一般的な ODS カラムと Shim-pack Arata C18 で平衡化までの時間を比較しました。分析条件を表 2 に示しました。メインピークの保持時間が同じになるよう、カラムにより有機溶媒比率を調整しました。

表 2 分析条件

System	: Nexera X2
Column	: Typical ODS (75 mm L.×3.0 mm I.D., sub-2 μm) (図 4) Shim-pack Arata C18 (75 mm L.×3.0 mm I.D., 2.2 μm) (図 5)
Mobile Phase	: 0.1% Phosphoric acid in water/Acetonitrile = 70/30 (v/v) (図 4) = 76/24 (v/v) (図 5)
Flow Rate	: 0.4 mL/min
Injection Vol.	: 1 μL
Column Temp.	: 40 °C
Detection	: SPD-M30A at 210 nm

<結果>

図 4 に、一般的な ODS カラムにおける通液開始 5 時間後と 12 時間後のクロマトグラムを比較しました。主成分であるアミトリプチリンピークと約 3 分付近の不純物ピーク 1 は、保持が弱くなったことが分かります。一方、約 4~5 分付近に溶出した不純物ピーク 2~4 は保持が強くなる傾向を示しました。さらに通液開始 5 時間で約 5.5 分に溶出した不純物ピーク 5 は、メインピークと重なりました。一般的な ODS カラムでは、通液開始から安定するまでに時間を要し、さらに成分により保持挙動が異なることから、分離度が変動してしまうことがわかります。

図 5 に、Shim-pack Arata C18 における通液開始 5 時間後と 12 時間後のクロマトグラムを比較しました。メインピークおよび不純物ピークのいずれにおいても、保持時間が一致しました。短時間で安定したカラム性能を発揮するだけでなく、その後も長時間に渡って性能を維持する特徴があることがわかります。

Shim-pack Arata C18 カラムでは、HPLC 不純物試験法の信頼性を損なうことなく安定した分析が可能です。

*Shim-pack Arata C18 は USP カラムカテゴリの L1 に該当します。

Shim-pack Arata および Nexera 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。

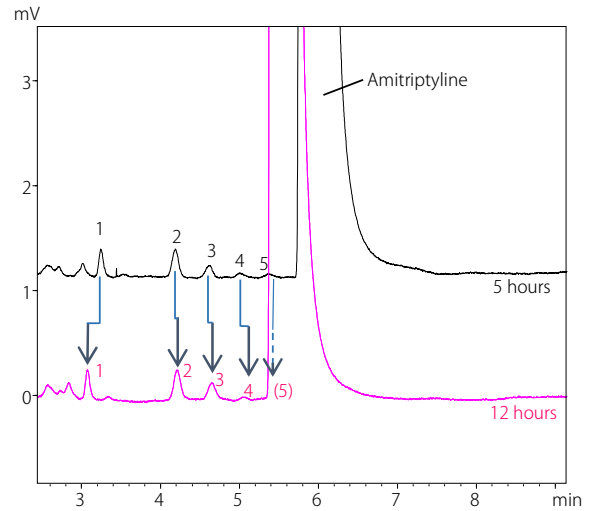


図 4 一般的なODSカラムを用いた通液5時間後、12時間後の拡大クロマトグラム

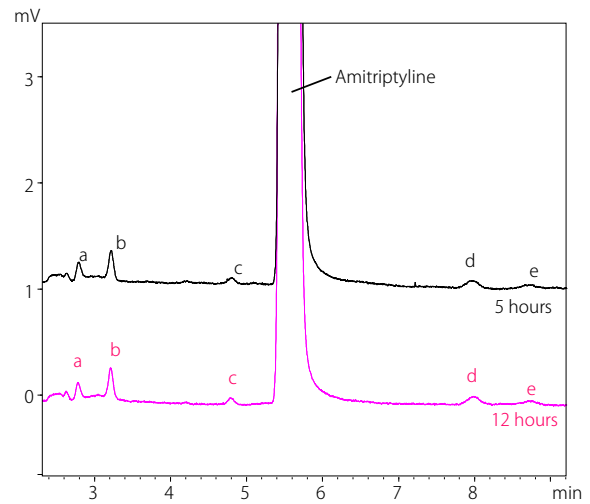


図 5 Shim-pack Arata C18を用いた通液5時間後、12時間後の拡大クロマトグラム

■ まとめ

本稿では、新規に開発した Shim-pack Arata C18 カラムを用いることにより、0.1% ぎ酸水溶液を用いた希薄酸性移動相において、塩基性化合物と酸性化合物の双方が良好なピーク形状で分析でき、なおかつ短時間で安定して測定可能であることを紹介しました。Shim-pack Arata C18 カラムを用いることにより、医薬品の品質管理において、信頼性の高い HPLC 不純物試験法の実施が可能となります。

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

初版発行：2019年3月

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。