

# Application News

## No. L451

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

### フォトダイオードアレイ検出器の新機能 *i*-DReC (Intelligent Dynamic Range Extension Calculator) の不純物分析への応用

*i*-PDeA (Intelligent Dynamic Range Extension Calculator), A New Function of Photodiode Array Detector, An Application for Impurity Analysis.

フォトダイオードアレイ検出器の新しいデータ解析法であるダイナミックレンジ拡張計算機能 *i*-DReC (Intelligent Dynamic Range Extension Calculator) を用いれば、検出器の信号が飽和する高濃度領域でも、スペクトルの相似性を利用して、ピーク面積/高さを計算することが可能です。今回は *i*-DReC の原理説明と、本機能を適用した医薬品成分に含まれる不純物の面積百分率による分析例をご紹介します。

Y. Watabe

#### ■ *i*-DReC の基本原理

##### Fundamental Principle of *i*-DReC Function

高濃度な試料の分析を行った場合、ピークがスケールアウトしてしまい、ピークの正しい面積値が得られないことがあります。*i*-DReC では、吸収の小さな波長でクロマトグラムを切り出して求めたピーク面積（高さ）に、ピークの裾野で切り出したスペクトルから計算した感度係数をかけることにより、対象ピーク的面積（高さ）を求めます。処理の手順は以下です。

1. ダイナミックレンジを超えた補正対象ピークの溶出領域でのスペクトルを取得します。
2. このスペクトルについて、設定波長である  $\lambda_a$  の長波長側または短波長側で、強度値がダイナミックレンジ内となる補正波長  $\lambda_b$  を自動的に探索します。
3. 補正波長  $\lambda_b$  でクロマトグラムを切り出し、波形処理を実行します。そして、このクロマトグラム中で、補正対象ピークに対応したピークを特定します。このピークの「ピーク面積・ピーク高さ」を補正用データとします。
4. スケールアウトした対象ピークの後半部分で、強度値が「感度補正スペクトル抽出強度」となる時間のスペクトルを自動抽出し、このスペクトルの波長  $\lambda_a$  の強度  $I_a$  と補正波長  $\lambda_b$  の強度  $I_b$  の比（感度係数） $k$  を求めます。  
 $k = I_a / I_b$
5. 3. で得られたクロマトグラムのピーク面積（高さ）に感度係数（ $k$ ）を乗じて、対象ピーク的面積（高さ）を自動算定します。

$$\text{ピーク面積} = (\text{補正波長のピーク面積}) \times k$$

$$\text{ピーク高さ} = (\text{補正波長のピーク高さ}) \times k$$

この機能を用いることにより、Fig. 2 のように、高濃度成分の直線性を補正することが可能です。

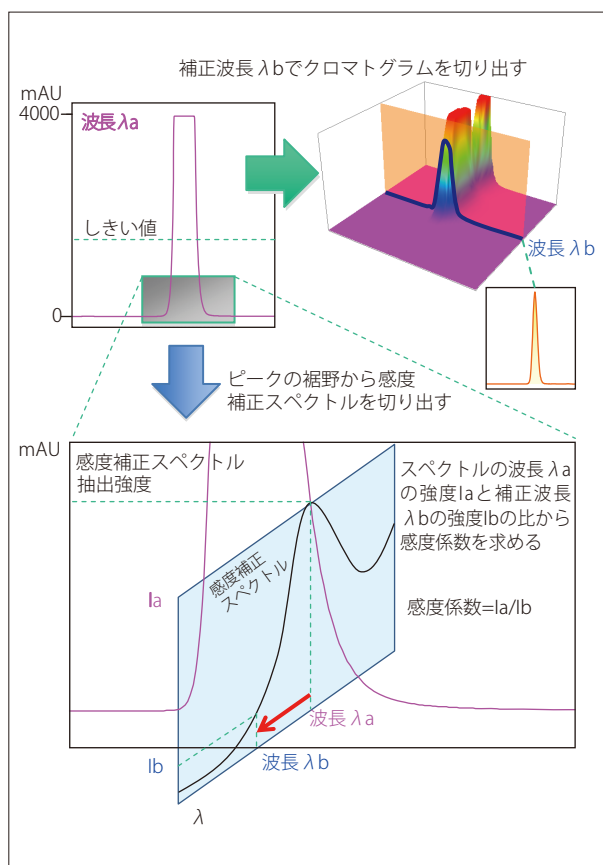


Fig. 1 *i*-DReC の基本原理  
Fundamental Principle of *i*-DReC

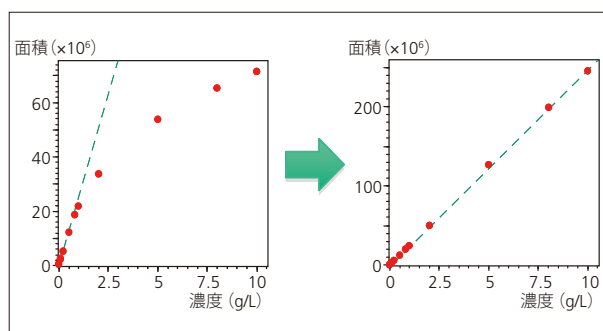


Fig. 2 *i*-DReC による検量線補正  
Linearity Correction by *i*-DReC

## ■不純物分析への応用

### Application for Impurity Analysis

医薬品等の不純物分析に関して、主成分に対して 0.1 % 程度あるいはそれ以下の存在比の微量不純物は通常、信頼性確保のため、以下のような手順で 2 回あるいはそれ以上の分析に基づいて計算されます。

1. 主ピークの高さが、検出器の直線性が充分確保できる範囲内（通常 1 AU 以下）になるような濃度に標準溶液を調製して分析を行う。
2. 微量不純物が安定的に検出可能な高濃度の試料溶液を準備し分析を行う。この場合、主ピークは検出器のダイナミックレンジをスケールアウトすることが多い。
3. 1. 2. の間の濃度比（希釈率）で 2. の不純物ピークの面積を除して 1. の状態での不純物ピーク的面積を算出する。
4. こうして計算上得られた不純物面積と 1. の主ピーク面積の総和から新たに面積百分率による不純物含有率を決定する。

しかしながら、この作業では濃度の異なる溶液で最低限度分析を行うこととなります。この計算作業を一度の分析で可能にするのが *i*-DReC 機能です。本機能を用いた分析では、医薬品に含まれる微量不純物の濃度に合わせた高濃度試料を分析するだけで適切な不純物含有率の計算が可能です。以下にニューキノロン系の感染症治療薬であるオフロキサシン中の *i*-DReC 機能を用いた不純物含有率決定の例を示します。

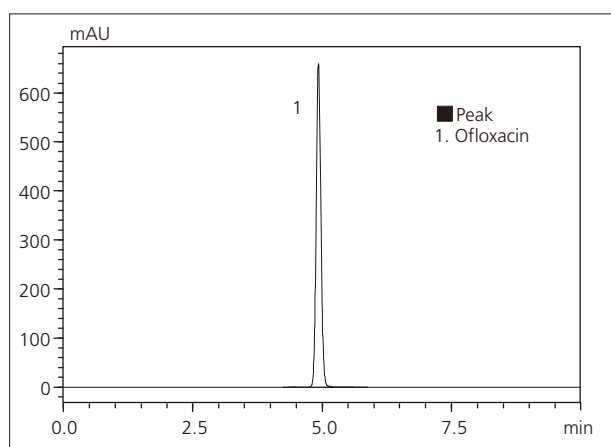


Fig. 3 適正濃度オフロキサシンのクロマトグラム  
Chromatogram of Ofloxacin at Appropriate Concentration

Table 1 分析条件  
Analytical Conditions

HPLC System	: Nexera X2
Column	: Shim-pack XR-ODS (75 mmL × 3.0 mm I.D., 2.2 μm)
Mobile Phase	: As described in Japanese Pharmacopoeia
Flow Rate	: 0.5 mL/min
Column Temp.	: 40 °C
Injection Vol.	: 2 μL
Detection	: SPD-M30A at 294 nm, response 0.24 sec, sampling rate 240 msec.
Flow Cell	: Standard

まず、オフロキサシン 200 mg/L の溶液 2 μL を Nexera X2 システムで分析します。ピーク頂上の吸光度は約 650 mAU 程度で十分検出器に直線性の範囲内にあると思われます。

次に 10 g/L の高濃度オフロキサシンのクロマトグラムとその部分拡大したものを示します。微量不純物の面積値、存在比率を安定的に得るため、オフロキサシンの濃度が過大になり、ピークがスケールアウトしています。

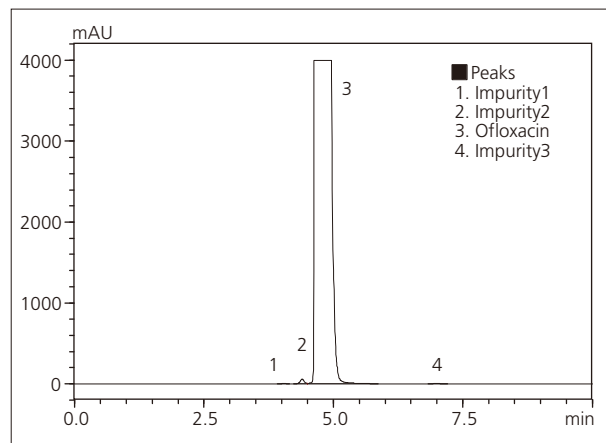


Fig. 4 高濃度オフロキサシンのクロマトグラム  
Chromatogram of Ofloxacin at High Concentration

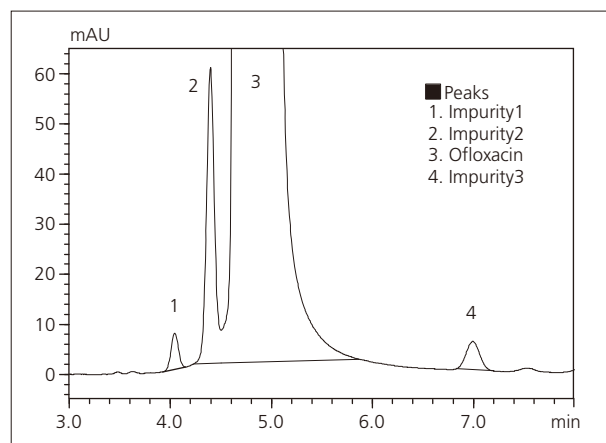


Fig. 5 高濃度オフロキサシンのクロマトグラム (拡大)  
Magnified Chromatogram of Ofloxacin at High Concentration

スケールアウトしたクロマトグラムに *i*-DReC 機能を適用し、主ピークのダイナミックレンジを拡張して得られた面積値から計算した不純物含有率と従来法により得られた結果の比較を以下のテーブルに示します。*i*-DReC の適用によって従来法と同等の結果が半減した分析回数で得られることがわかります。

Table 2 各法による不純物含有率計算結果比較  
Comparison of Impurity contents with/without *i*-DReC function

(面積 %)	Impurity1	Impurity2	Ofloxacin	Impurity3
<i>i</i> -DReC なし	0.04	0.358	99.545	0.057
<i>i</i> -DReC あり	0.016	0.147	99.813	0.024
従来法	0.017	0.153	99.731	0.025