

Application News

No. L523

高速液体クロマトグラフィー

一体型 LC システム Nexera-i MT を用いたイルベサルタンの分析

近年、超高速液体クロマトグラフ（以下 UHPLC）が浸透しつつあり、今後は薬局方にも UHPLC の分析条件が収載されることが増加すると見込まれます。しかしながら、一般的に品質管理などの製造部門ではまだ UHPLC の浸透は浅く、UHPLC 市場全体に占める割合は 9% です（研究開発では 38%）¹⁾。そのため、薬局方に収載された分析条件をそのまま品質管理部門で適用することが難しい場合も考えられます。

第十七改正日本薬局方第一追補にて新規収載されたイルベサルタン・アムロジピンベシル酸塩錠²⁾は、充てん剤粒子径が 2.2 μm のカラムを用いることから、UHPLC を使用します。そのため、装置耐圧などの問題により、分析条件がそのまま適用できない可能性があります。

そのような中、厚生労働省医薬・生活衛生局からの通知（薬生審査発 0331 第 1 号）には、「本品目に該当する医薬品については、当該医薬品各条の改正を前提として、適切な分析バリデーションデータに基づき、コンベンショナルな（従来型の）液体クロマトグラフィーを使用した試験条件の設定を行い、承認申請することが可能である。」と記載されており、局方収載条件をコンベンショナル（以下 HPLC）条件へ変更することも認められているとも考えられます。

ここでは、第十七改正日本薬局方第一追補にて新規収載されたイルベサルタン・アムロジピンベシル酸塩錠のイルベサルタン定量法について、当社一体型 LC システム NexeraTM-i MT（以下、Nexera-i MT）を用いたシステム適合性試験、および HPLC 分析への分析条件移行例をご紹介します。

Y. Osaka

■ システム適合性試験

イルベサルタン・アムロジピンベシル酸塩錠の定量法におけるシステム適合性試験の分析条件を表 1 に、結果のクロマトグラムを図 1 に示します。また、システム適合性試験の結果を表 2 に示しますが、システム適合性試験を満たしていることが確認されました。

表 1 イルベサルタン・アムロジピンベシル酸塩錠の定量法分析条件

Column	: Shim-pack TM XR-ODSII 75 mmL × 3.0 mmID, 2.2 μm
Mobile phase	: Methanol / 0.02 mmol/L (Sodium) Phosphate Buffer (pH3.0) = 3 / 2
Flow rate	: 0.8 mL/min
Column temp.	: 40 °C
Injection volume	: 5 μL
Detection	: UV 237 nm (Semimicro Cell)
Sample	: Irbesartan and Amlodipine Besilate

表 2 システム適合性試験の結果

Test item	Criteria	Result	Judgement
Resolution (between Amlodipine Besilate and Irbesartan)	≥ 5	14.50	PASSED
Relative standard deviation of Area (N=6)	≤ 1.0%	0.145	PASSED

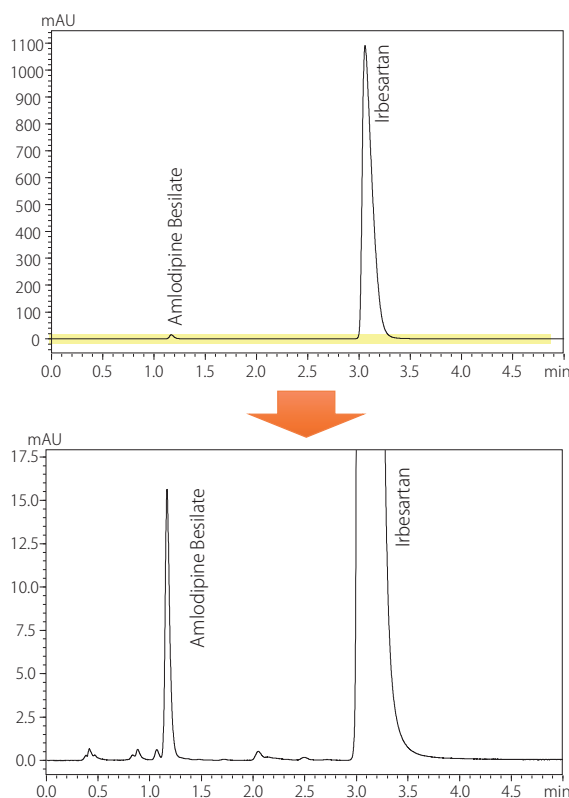


図 1 イルベサルタン（およびアムロジピンベシル酸塩）の分析結果

■ HPLC へ分析条件の移行

Nexera-i MT は、1 台のシステムに HPLC 流路と UHPLC 流路の 2 流路を独立して搭載しています。それぞれに適したカラムをセットすることが可能で、UHPLC から HPLC へ移行を検討する際に、都度カラムを付け替える必要がありません。

2018 年 1 月時点において、日本薬局方では再バリデーションを必要としない分析条件の変更に関する許容範囲は明記されていません。しかしながら、日本薬局方（JP）、米国薬局方（USP）、欧州薬局方（EP）の 3 局が国際調和を図り、分析条件の許容範囲を統一しようという流れがあります。ここでは、2017 年 7 月に発行された国際調和案のパブリックコメント³⁾に基づいた分析条件の変更を試みました。なお、国際調和案につきましては最終的に採用される内容とは異なる可能性があります。

■ イソクラティック溶離の変更許容範囲

国際調和案ではイソクラティック溶離について許容範囲が詳細に明記されています³⁾。ここでは、主な項目のみを抜粋します。

カラムサイズ：粒子径および長さは、カラム長さ (L) と粒子径 (dp) の比 L/dp が $-25 \sim +50\%$ の範囲に収まること。なお、表面多孔性粒子のカラムについては別規定あり。

流量：粒子径を変更した際には流量の変更も必要となる。変更は以下の式に従う。

$$F_2 = F_1 \times [(dc_2^2 \times dp_1) / (dc_1^2 \times dp_2)] \dots (A)$$

F_1 : 医薬品各条における流量 (mL/分)

F_2 : 変更後の流量 (mL/分)

dc_1 : 医薬品各条におけるカラムの内径 (mm)

dc_2 : 使用するカラムの内径 (mm)

dp_1 : 医薬品各条におけるカラム粒子径 (μm)

dp_2 : 使用するカラム粒子径 (μm)

また、粒子径を $3 \mu\text{m}$ 未満から $3 \mu\text{m}$ 以上へ変更する場合は、 20% を上回ってのカラム効率の低下を避けるために、線速度 (流量) をさらに減少させる必要がある。カラムの大きさの変更による調整後、さらに流量の $\pm 50\%$ の変更が許容される。

以上の内容から、イルベサルタン・アムロジピンベシル酸塩錠の定量法を HPLC 分析条件へ変更しました。その内容を表 3 に示します。

表 3 国際調和案に基づいた分析条件の変更

	Based on JP	Transfer (HPLC)	note
Column length (L) (mm)	75	150	User choice
Column diameter (d_c) (mm)	3.0	4.6	User choice
Particle size (d_p) (μm)	2.2	5.0	User choice
L/d_p	34.1	30.0	-12%
Flow rate (mL/min)	0.8	1.0	*1

*1 式 (A) より約 0.83 mL/min となりますが、ここから $\pm 50\%$ の変更が許容されているため、最終的に 1.0 mL/min としました。

■ HPLC の分析結果

詳細な分析条件を表 4 に示します。分析結果のクロマトグラムを図 2 に示します。日本薬局方に収載されたシステム適合性試験に従った結果については表 5 に示します。本原稿の執筆時点では再バリデーションが不要な分析条件の変更とは認められていませんが、日本薬局方が求めるシステム適合性試験の規格値を満たした結果が得られていることが確認されました。

表 4 HPLC 分析条件

Column	: Shim-pack TM VP-ODS 150 mmL. \times 4.6 mmI.D., $5.0 \mu\text{m}$
Mobile phase	: Methanol / 0.02 mmol/L (Sodium) Phosphate Buffer (pH3.0) = 3 / 2
Flow rate	: 1.0 mL/min
Column temp.	: $40 \text{ }^\circ\text{C}$
Injection volume	: $10 \mu\text{L}$
Detection	: UV 237 nm (Semimicro Cell)
Sample	: Irbesartan and Amlodipine

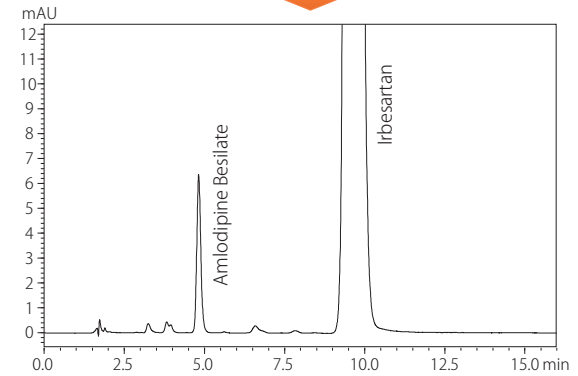
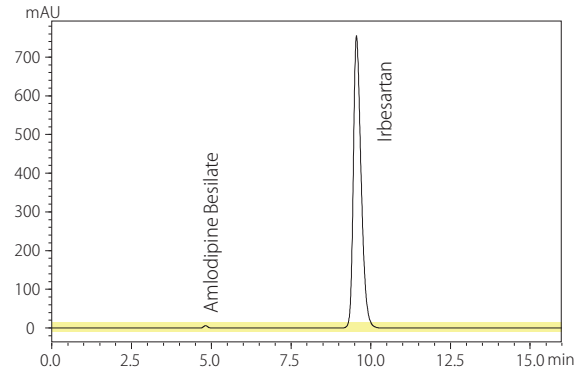


図 2 イルベサルタン (およびアムロジピンベシル酸塩) の HPLC 分析結果

表 5 システム適合性試験の結果

Test item	Criteria	Result	Judgement
Resolution (between Amlodipine Besilate and Irbesartan)	≥ 5	13.9	PASSED
Relative standard deviation of Area (N=6)	$\leq 1.0\%$	0.212	PASSED

[参考文献]

- 1) Strategic Directions International, Inc. Ultra-High Performance Liquid Chromatography (UHPLC) Published May 2016
- 2) 第十七改正日本薬局方第一追補 42-44
- 3) 国際調和案 (Stage4)、独立行政法人 医薬品医療機器総合機構 (<http://www.pmda.go.jp/rs-std-jp/standards-development/jp/pub-comments/pdg/0033.html>)

Nexera および Shim-pack は、株式会社 島津製作所の商標です。