

Application News

No. L524

高速液体クロマトグラフィー

日米欧三薬局方国際調和案による Pramipexole の高速分析例

近年、分析業務の効率化や生産性の向上のため、超高速液体クロマトグラフ（以下 UHPLC）が製薬分野でも浸透してきています。薬局方においてもそれらに対応するため、例えば米国薬局方（USP）第 40 版に記載されている <621>CHROMATOGRAPHY や、欧州薬局方（EP）第 8 版に記載されている Adjustment of chromatographic condition では、システム適合性試験に適合する範囲内で分析条件の高速化に関する変更が許容されています。一方で日本薬局方（JP）では分析条件の変更については明確な許容範囲が記載されていません。また、USP、EP ともに本原稿の執筆時点（2018.3）ではグラジエント溶離に関する高速化は実質許容されていません。

そのような状況で、日米欧の各薬局方が国際調和を図り、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。その中でグラジエント溶離についてもあらたに許容範囲が明記される見込みです¹⁾。

ここでは、日米欧三薬局方国際調和案に基づき、当社一体系 LC システム Nexera™-i MT を用いて、USP 第 40 版に記載されているプラミペキソール塩酸塩の類縁物質の分析法²⁾を高速化した例をご紹介します。なお、国際調和案につきましては、2017 年 7 月のパブリックコメントを募集するための案に基づいていますので、最終的に採用される内容とは異なる可能性があります。

Y. Osaka

■ グラジエント溶離の変更許容範囲

国際調和案ではグラジエント溶離について許容範囲が詳細に明記されています¹⁾。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~+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 μm 以上から 3 μm 未満へ変更する場合は、カラム効率が 20% 以上低下しない範囲で線速度を増加させることが認められる。

グラジエント時間：グラジエント容量はカラム容量に比例して変更する。グラジエント容量はグラジエント時間（ t_G ）と流量（ F ）の積であり、カラム容量に対するグラジエント容量の比を一定にするため、以下の計算式を用いる。

$$t_{G2} = t_{G1} \times (F_1 / F_2) [(L_2 \times dc_2^2) / (L_1 \times dc_1^2)] \dots (B)$$

t_{G1} ：元のグラジエント時間

t_{G2} ：変更したグラジエント時間

■ Pramipexole 塩酸塩類縁物質試験の高速化

プラミペキソールはパーキンソン病などの改善に用いられる医薬品です。薬局方にはグラジエント溶離が試験法として記載されており、高速化するには再バリデーションが必要でした。先述の通り、国際調和案ではグラジエント溶離でも高速化に関する分析条件の変更が許容される見込みですので、ここでは 2017 年 7 月のパブリックコメントを募集するための案に準拠した内容で高速化を検討しました。分析条件の移行については Nexera™-i MT 専用メソッドトランスファーツールが当社ワークステーション LabSolutions™（以下、LabSolutions）に搭載されています*1 ので、それを用いました。本メソッドトランスファーは、LabSolutions の既存メソッドからグラジエント情報や流量などを読み込み、使用するカラムと流量を入力するだけでグラジエント時間が変換されます。さらにそのまま LabSolutions のメソッドファイルへ記録することが出来るため、手作業による転記ミスを防ぐことが可能です。図 1 にメソッドトランスファーの画面を示します。また、元の USP 条件と高速化への移行後の条件（UHPLC）を表 1 に示し、詳細な分析条件を表 2 および表 3 に示します。

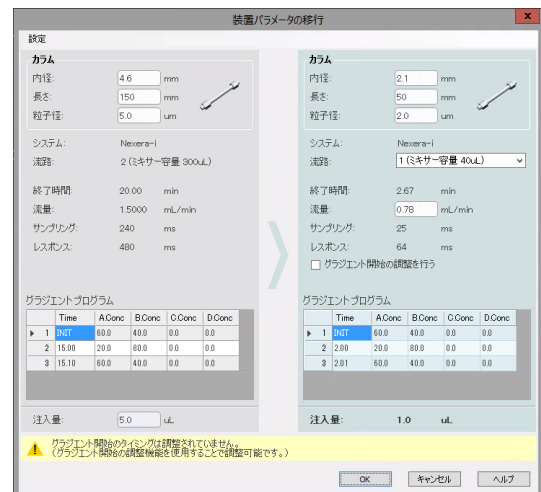


図 1 Nexera™-i MT 専用メソッドトランスファー

*1 2018 年 1 月時点のバージョンは国際調和案とほぼ同等の計算アルゴリズムを搭載していますが、完全準拠はしていません。

表1 国際調和案に基づいた分析条件の高速化

	USP	Transfer (UHPLC)	note
Column length (L) (mm)	150	50	User choice
Column diameter (dc) (mm)	4.6	2.1	User choice
Particle size (dp) (μm)	5.0	2.0	User choice
L/dp	30.0	25.0	-17%
Flow rate (mL/min)	1.5	0.78	(A)
Gradient factor		0.13	(B)
Gradient			
%B	Time (min)	Time (min)	
40	0	0	
80	15	2.00	
40	15.1	2.01	
40	20	3.5	*2
Injection Volume (μL)	5	1	*3

*2 終了時間は遅れ容量を加味して変更しています。

*3 注入量は国際調和案とは異なり、カラム断面積に比例して低減させています。

表2 USP 準拠の分析条件

Column	: Shim-pack™ VP-ODS : 150 mmL × 4.6 mmI.D., 5.0 μm
Mobile phase	: A) 67 mmol/L (Potassium) Phosphate Buffer (pH 3.0) Containing 21 mmol/L 1-Octanesulfonic Acid Sodium Salt B) Solution A / Acetonitrile (1/1)
Flow rate	: 1.5 mL/min
Time program	: B Conc. 40 % (0 min) → 80 % (15 min) → 40 % (15.1 - 20 min)
Column temp.	: 40 °C
Injection volume	: 5 μL
Detection	: UV 264 nm
Sample	: Pramipexole Dihydrochloride

表3 UHPLC 分析条件

Column	: Shim-pack™ GIST C18 : 50 mmL × 2.1 mmI.D., 2.0 μm
Mobile phase	: A) 67 mmol/L (Potassium) Phosphate Buffer (pH 3.0) Containing 21 mmol/L 1-Octanesulfonic Acid Sodium Salt B) Solution A / Acetonitrile (1/1)
Flow rate	: 0.78 mL/min
Time program	: B Conc. 40 % (0 min) → 80 % (2.00 min) → 40 % (2.01 - 3.5 min)
Column temp.	: 40 °C
Injection volume	: 1 μL
Detection	: UV 264 nm
Sample	: Pramipexole Dihydrochloride

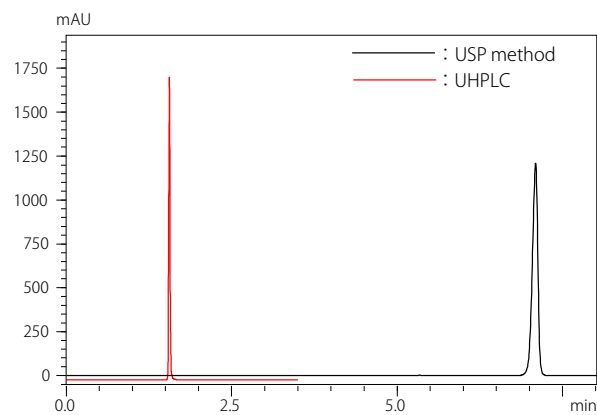


図2 プラミペキソール塩酸塩の分析結果

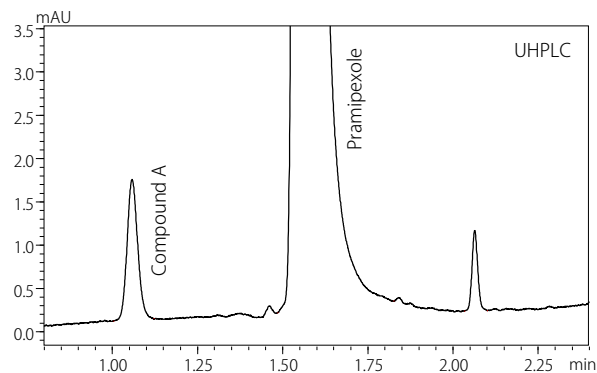
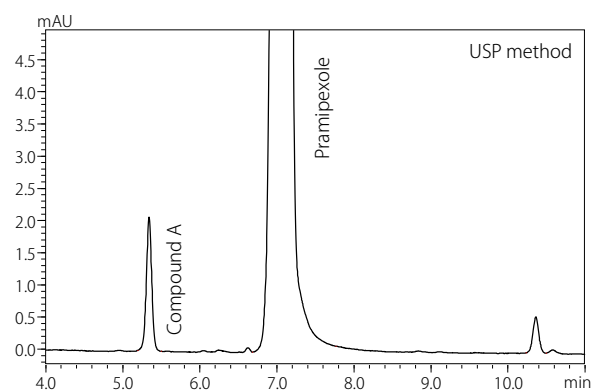


図3 プラミペキソール塩酸塩付近のクロマトグラムの拡大

■ 分析結果

プラミペキソール塩酸塩の USP 準拠および UHPLC 分析の結果を図2に示し、プラミペキソール塩酸塩の溶出付近を拡大したクロマトグラムを図3に示します。表4にはシステム適合性試験の結果を示しますが、USP 準拠、UHPLC 分析共にシステム適合性を満たしていることが分かります。

以上により、Nexera™-i MT 専用のメソッドトランスファーを用いることで、スムーズなメソッド移行が可能であることが示されました。今後、薬局方ではグラジエント分析においてもメソッド変更が許容される見込みとなっているため、作業性を向上させるためにもメソッドトランスファーのようなツールの活用がより一層重要になってくると思われます。

表4 システム適合性結果

Test item	Criteria	USP	UHPLC	Judgement
Resolution (between compound A and pramipexole)	≥6.0	12.3	10.7	PASSED
Tailing factor	≤2.0	0.83	1.10	PASSED
Relative standard deviation	≤5.0 %	0.161	0.265	PASSED

[参考文献]

- 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>)
- USP pharmacopoeia 40: 5795 "Pramipexole Dihydrochloride"

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

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：2018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。