

Application News

No. L494

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

“i-Series” による USP および日本薬局方に準拠したオメプラゾールの分析

Analysis of Omeprazole within USP and JP by “i-Series”

オメプラゾールは、胃酸の過剰な分泌を抑える効果があり、胃潰瘍や十二指腸潰瘍、逆流性食道炎の治療に用いられます。また比較的副作用の少ない薬としても知られています。胃潰瘍や十二指腸潰瘍の治療には一定期間服用される事が多く、またこれらの疾患は再発することが多い事もあり、世界的にみても多く服用されている薬の一つです。

本アプリケーションニュースでは、米国薬局方 (USP: United States Pharmacopeia) と、日本薬局方 (JP: Japanese Pharmacopoeia) に準拠してオメプラゾールを分析した例を紹介しします。さらに USP については、General Chapter 621 Chromatography にしたがって分析時間を短縮した例もご紹介しします。

USP に準拠した分析では、一体型 UHPLC “Nexera-i” を用いました。“Nexera-i” は、HPLC/UHPLC、どちらの分析条件でも対応することが可能な装置です。日本薬局方準拠の場合 (HPLC 条件) では、一体型 HPLC “Prominence-i” を用いました。

A. Nomura

■ USP メソッド – 指定条件

The USP Method – Original Method

USP モノグラムに指定された分析条件を Table 1 に示します。オメプラゾール試験法のシステム適合性試験溶液 (0.1 mg/mL, アセトニトリル-ほう酸溶液) の分析結果を Fig. 1 の上段に示します。モノグラムに指定されているシステム適合性試験のシンメトリ係数 (Tailing factor) および相対標準偏差 (Relative standard deviation) (n = 6) の両項目において、十分にしきい値を満たす結果が得られました。(Table 4)

Table 1 分析条件
Analytical Conditions (the USP Original Method)

System	: Nexera-i
Column	: Shim-pack GIST C8 (150 mm L. × 4.6 mm I.D., 5 μm)
Mobile Phase	: Acetonitrile/Phosphate (Na) Buffer (pH 7.6) = 1/3 (v/v)
Flow Rate	: 0.80 mL/min
Column Temp.	: 40 °C
Injection Volume	: 20 μL
Detection	: UV 280 nm (Cell temp. 40 °C)

Table 2 高速化におけるカラムの選定
Selection of Column for Speed Enhancement

	Column size	L/dp	ratio
The USP Original Method	150 mm L. × 4.6 mm I.D., 5 μm	30000	1 (100 %)
The USP Fast Method	50 mm L. × 3.0 mm I.D., 2 μm	25000	0.83 (-17 %)

Table 3 分析条件 (USP メソッド高速化)
Analytical Conditions (the USP Fast Method)

System	: Nexera-i
Column	: Shim-pack GIST C8 (50 mm L. × 3.0 mm I.D., 2 μm)
Mobile Phase	: Acetonitrile/Phosphate (Na) Buffer (pH 7.6) = 1/3 (v/v)
Flow Rate	: 0.85 mL/min
Column Temp.	: 40 °C
Injection Volume	: 8 μL
Detection	: UV 280 nm (Cell temp. 40 °C)

■ USP メソッドの高速化

Speed Enhancement of the USP Method

USP の General Chapter 621 Chromatography に、分析条件パラメーターの変更許容範囲が示されています。この許容範囲内で条件を変更することにより、分析時間を短縮することができます。USP 条件の高速化に関する詳細は、AN L464 をご覧ください。

分析時間短縮のためには、1) カラム長さを短くする、2) 流量 (線速度) を大きくする、という方法があります。

カラムの分離能を維持するために、「L (カラム長さ) /dp (粒子径)」を等しく (許容範囲: -25 % ~ +50 %) します。カラムサイズは 50 mm L. × 3.0 mm I.D., 2 μm としました。詳細は Table 2 をご参照ください。

流量はカラム断面積に比例、粒子径に反比例するように計算し (許容範囲は本文参照)、0.85 mL/min としました。

測定に用いた装置は、高速多検体処理に適した一体型 UHPLC “Nexera-i” を用いました。“Nexera-i” は、HPLC 条件と UHPLC 条件を、配管やセル等を変更することなく分析することができます。従って、たとえば従来からの HPLC 条件でトレース分析をしたい場合でも、新たに高速化を検討したい場合 (UHPLC 条件) でも、同一の装置でまかなうことができます。

高速化した分析条件を Table 3 に、システム適合性試験溶液のクロマトグラムを Fig. 1 の下段に示します。分析時間は、Table 1 の分析条件 (Fig. 1 上段) と比較して約 1/6 になりました。

システム適合性試験の結果を Table 4 に示しました。高速化条件においても十分にしきい値を満たしました。

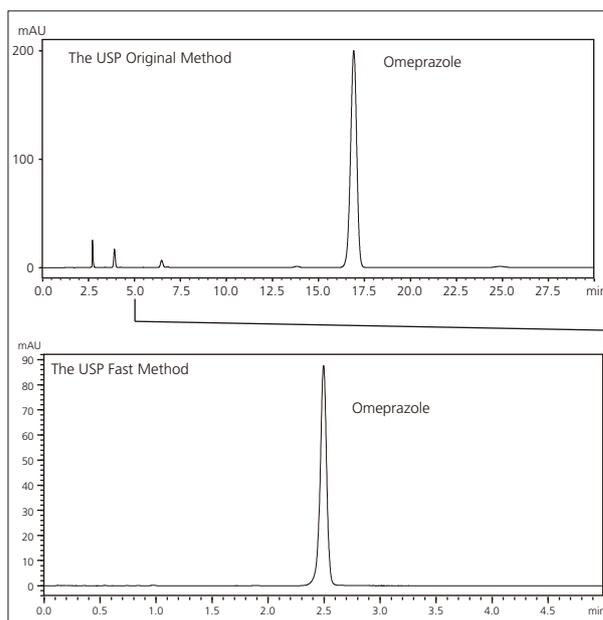


Fig. 1 USP 準拠したクロマトグラム (上段: 指定条件, 下段: 高速化条件)
Chromatograms for the USP Method
(Upper: the USP Original Method, Lower: the USP Fast Method)

Table 4 システム適合性試験結果 (USP 準拠 指定条件および高速化条件)
Results of System Suitability Test of the USP Method (the Original Method and the Fast Method)

System Suitability Requirements		Analytical Conditions			
		The USP Original Method (Table 1)		The USP Fast Method (Table 3)	
		Results	Judgments	Results	Judgments
USP Tailing Factor for Omeprazole	≤ 1.5	0.94	PASS	0.89	PASS
Relative Standard Deviation for Omeprazole (n = 6)	≤ 1.0 %	Rt 0.097 %	PASS	Rt 0.081 %	PASS
		Area 0.022 %	PASS	Area 0.121 %	PASS

■ 日本薬局方準拠の分析

the JP Method

第十六改正日本薬局方での分析条件を Table 5 に示します。装置には一体型 HPLC “Prominence-i” を用いました。

日本薬局方でのシステム適合性試験は、「検出の確認」、「システムの性能」、「システムの再現性」の3項目があります。それぞれのクロマトグラムを Fig. 2 ~ 4 に示します。

「検出の確認」では、システム適合性試験用溶液 (5 mg/L, 移動相で調製) と、本溶液を移動相で5倍に希釈した溶液の両方を測定し、ピーク面積を比較します。5倍に希釈した溶液中オメプラゾールのピーク面積がシステム適合性試験用溶液の結果と比較して、約20% (許容範囲15~25%) になりました。

「システムの性能」では、オメプラゾールと1,2-ジニトロベンゼンをホウ酸ナトリウム - エタノール溶液に溶かします (各 100 mg/L, 250 mg/L)。この溶液を分析し、オメプラゾールと1,2-ジニトロベンゼンの分離度を確認します。結果、分離度は約24 (許容範囲10以上) となりました。

「システムの再現性」では、システム適合性試験用溶液を6回繰り返し分析し、ピーク面積の相対標準偏差を確認します。相対標準偏差は0.2% (許容範囲2.0%以下) となりました。

これらの結果を Table 6 にまとめました。

Table 5 分析条件 (日本薬局方)
Analytical Conditions (the JP Method)

System	: Prominence-i
Column	: Shim-pack GIST C8 (150 mm L × 4.6 mm I.D., 5 μm)
Mobile Phase	: Phosphate (Na) Buffer (pH 7.6) / Acetonitrile = 29/11 (v/v)
Flow Rate	: 1.3 mL/min
Column Temp.	: 25 °C
Injection Volume	: 10 μL
Detection	: UV 280 nm (Cell temp. 40 °C)

Table 6 システム適合性試験結果 (日本薬局方)
Results of System Suitability Test (the JP Method)

System Suitability Requirements	Results	Judgments
Test for Required Detectability	Area 15 ~ 25 %	19.7 % PASS
System Performance	Resolution ≥ 10	23.6 PASS
System Repeatability	% RSD Area ≤ 2.0 %	0.202 % PASS

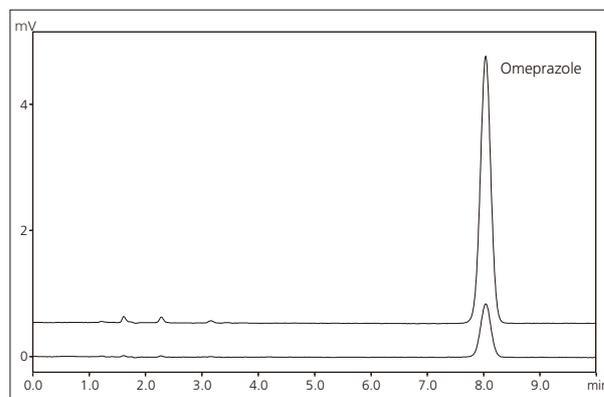


Fig. 2 日本薬局方に準拠したクロマトグラム - 検出の確認
(上段: 5 mg/L, 下段: 1 mg/L)
Chromatogram for the JP Method - Test for Required Detectability
(Upper: 5 mg/L, Lower: 1 mg/L)

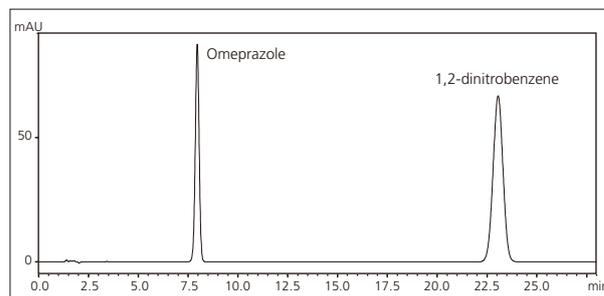


Fig. 3 日本薬局方に準拠したクロマトグラム - システムの性能
Chromatogram for the JP Method - System Performance

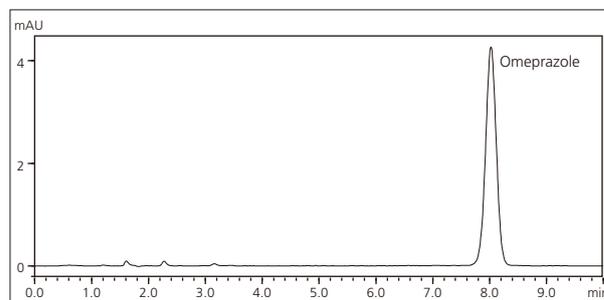


Fig. 4 日本薬局方に準拠したクロマトグラム - システムの再現性
Chromatogram for the JP Method - System Repeatability