SHIMADZU
Excellence in Science

Application News

高速液体クロマトグラフ i-Series LC-2050C

日本薬局方に準拠した バラシクロビル塩酸塩の分析

日光 政隆、大矢 知佳

ユーザーベネフィット

- ◆ 日本薬局方に準拠したバラシクロビル塩酸塩の分析を簡便に感度良く実施できます。
- ◆ 室温以下のカラムオーブン条件でも、再現性良く分析できます。

■はじめに

バラシクロビル塩酸塩は単純疱疹や水痘、帯状疱疹などの治療薬として使用されています。この薬剤は、DNAの複製を阻害することでウイルスの増殖を抑制するDNAポリメラーゼ阻害剤の一種で、単純疱疹や水痘、帯状疱疹の原因となるヘルペスウイルスの増殖を抑え、症状を緩和させます。

本稿では、一体型液体クロマトグラフ"i-Series LC-2050C"と低温分析用オプションキットを用い、第十八改正日本薬局方に準拠して分析を行った例をご紹介します。本試験法では、カラム温度を室温以下に設定する必要があります。

■日本薬局方準拠の分析

日本薬局方では、液体クロマトグラフを用いた「純度試験」と「定量試験」が設定されています。これらの試験において「検出の確認」、「システムの性能」、「システムの再現性」などのシステム適合性を確認することが求められています。バラシクロビル塩酸塩分析に関するシステム適合性の確認項目は以下の通りです。

純度試験（ii）：

「検出の確認」では、純度試験（ii）用溶液*1（4.0 mg/L、試料溶液1 mL*2から調製用混液*3で調製）と、本溶液を調製用混液で20倍に希釈した溶液の両方を測定し、バラシクロビルのピーク面積比を確認します。

「システムの性能」では、純度試験（ii）用溶液を測定し、バラシクロビルのピークの理論段数およびシンメトリー係数を確認します。

「システムの再現性」では、純度試験（ii）用溶液を6回繰り返し分析し、ピーク面積値の相対標準偏差を確認します。

純度試験（iii）：

「検出の確認」では、試料溶液*2と、純度試験（iii）用溶液*4（4 mg/L、試料溶液1 mL*2から0.05 mol/L 塩酸試液で調製）を0.05 mol/L 塩酸試液で5倍に希釈した溶液の両方を測定し、バラシクロビルのピーク面積比を確認します。

「システムの性能」では、純度試験（iii）用溶液を測定し、バラシクロビルのピークの理論段数およびシンメトリー係数を確認します。

「システムの再現性」では、 純度試験（iii）用溶液を6回繰り返し分析し、ピーク面積値の相対標準偏差を確認します。

定量法：

「システムの性能」では、定量法用標準溶液*5（500 mg/L、0.05 mol/L 塩酸試液で調製）を測定し、バラシクロビルのピークの理論段数およびシンメトリー係数を確認します。

「システムの再現性」では、標準溶液*5を6回繰り返し分析し、ピーク面積値の相対標準偏差を確認します。

*1 純度試験（ii）用溶液　：
試料溶液1 mLに調製用混液を加えて100 mLとする。
*2 試料溶液　：
バラシクロビル塩酸塩40 mgを調製用混液100 mLに溶解させる。
*3 調製用混液：
水/エタノール(95)混液（4:1）
*4 純度試験（iii）用溶液　：
試料溶液1 mLを正確に量り、0.05 mol/L 塩酸試液を加えて正確に100 mLとする。
*5 定量法用標準溶液　：
バラシクロビル塩酸塩標準品約25 mgを精密に量り、0.05 mol/L 塩酸試液に溶かし、正確に50 mLとする。

表1に純度試験（ii）の分析条件、表2に純度試験（iii）および定量法の分析条件を示します。本稿では表1および2の分析条件を用いて分析を行いました。

表 1　純度試験（ii）の分析条件

System	: i-Series LC-2050C
Column	: Shim-pack™ VP-Phenyl*6 (250 mm x 4.6 mm I.D., 5 µm)
Mobile Phase A	: Trifluoroacetic acid / water = 3 g / 1000 mL
Mobile Phase B	: Trifluoroacetic acid / methanol = 3 g / 1000 mL
Time Program	: B Conc. 10% (0 – 5 min) → 40% (5 – 35 min)
Flow Rate	: 0.8 mL/min
Column Temp.	: 15 ℃
Injection Volume	: 10 µL
Detection	: UV at 254 nm

*6 P/N：228-59928-92

表 2　純度試験（iii）および定量法の分析条件

System	: i-Series LC-2050C
Column	: CROWNPAK CR(+) (150 mm x 4.0 mm I.D., 5 µm)
Mobile Phase	: Perchloric acid / methanol / water = 5 mL/30 mL /1000 mL
Flow Rate	: 0.7 mL/min*7
Column Temp.	: 10 ℃
Injection Volume	: 10 µL
Detection	: UV at 254 nm

*7 バラシクロビルの保持時間が約21分になるよう調整

■分析結果

表 3　システム適合性試験結果

Test		Test item	Criteria	Result	Judgement
Purity (ii)	Detectability	Area ratio	3.5% - 6.5%	4.92%	PASSED
	System performance	Theoretical plate number	≥ 25000	46742	PASSED
		Symmetry factor	≤ 2.0	1.02	PASSED
	System repeatability	Relative standard deviation	≤ 2.0%	0.49%	PASSED
Purity (iii)	Detectability	Area ratio	0.07% - 0.13%	0.093%	PASSED
	System performance	Theoretical plate number	≥ 700	1941	PASSED
		Symmetry factor	≤ 1.5	1.08	PASSED
	System repeatability	Relative standard deviation	≤ 2.0%	0.64%	PASSED
Assay	System performance	Theoretical plate number	≥ 700	1849	PASSED
		Symmetry factor	≤ 1.5	1.22	PASSED
	System repeatability	Relative standard deviation	≤ 1.0%	0.02%	PASSED

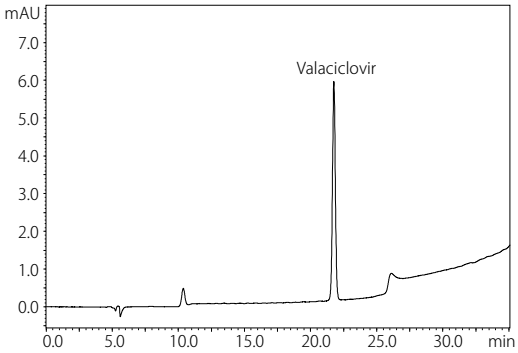

図 1　日本薬局方に準拠したクロマトグラム
純度試験（ii）ーシステムの性能

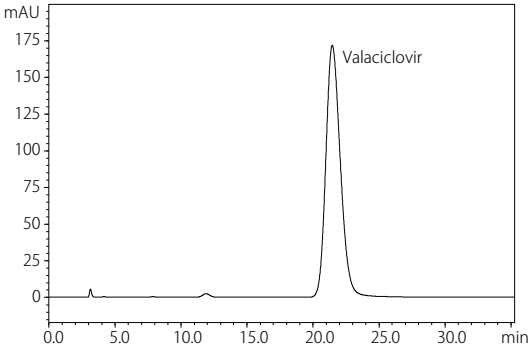

図 2　日本薬局方に準拠したクロマトグラム
純度試験（iii）ーシステムの性能

表3にシステム適合性試験結果、図1に純度試験（ii）ーシステムの性能のクロマトグラム、図2に純度試験（iii）ーシステムの性能のクロマトグラム、図3に定量法ーシステムの性能のクロマトグラムを示します。

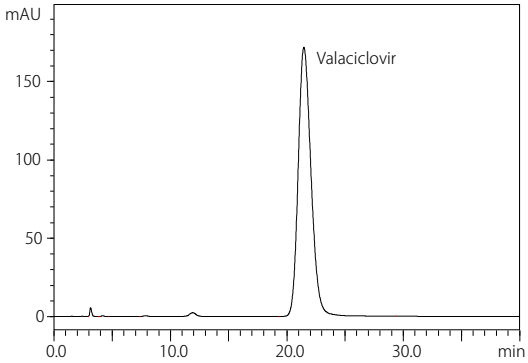

図 3　日本薬局方に準拠したクロマトグラム
定量法ーシステムの性能

■まとめ

本稿では、一体型液体クロマトグラフi-Series LC-2050Cを用いて、日本薬局方のバラシクロビル塩酸塩のシステム適合性試験に従い、分析を行いました。その結果、検出の確認、システムの性能、およびシステムの再現性はいずれも日本薬局方の基準を満たすことを確認しました。

今回、カラムオーブン温度を15 ℃以下に設定するため、i-series低温分析用オプションキットを使用しました。これを用いることで、一般的な実験室環境（25 ℃）でもカラムオーブンを10 ℃に設定し分析が可能です。

[注意事項]
本稿で使用したカラムCROWNPAK CR(+)は、液体クロマトグラフィー用18-クラウンエーテル固定化シリカゲルを充填したカラムです。詳しい情報につきましては、製造元の株式会社ダイセルへご確認ください。

Shim-pack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。

株式会社 島津製作所

01-00407-JP　初版発行：2022年 8月

島津コールセンター　0120-131691

本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。
本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

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。

最新版は、島津製作所>分析計測機器の以下のサイトより閲覧できます。
https://www.an.shimadzu.co.jp/apl/index.htm
会員制情報サービス Shim-Solutions Club にご登録いただきますと、毎月の最新情報をメールでご案内します。
新規登録は、https://solutions.shimadzu.co.jp/ よりお願いします。

© Shimadzu Corporation, 2022

アンケート

関連製品 一部の製品は新しいモデルにアップデートされている場合があります。

i-Series
一体型液体クロマトグラフ

関連分野

低分子医薬品

バイオ医薬品

価格お問い合わせ

製品お問い合わせ

技術お問い合わせ

その他お問い合わせ