

USPに準拠した解熱鎮痛剤のオンライン 溶出試験—内部標準物質の自動添加—

松岡 佳那、田邊 彩乃

ユーザーベネフィット

- ◆ 溶出試験の自動化が実現できます。
- ◆ 自動サンプリング機能によって、再現性の良い試験を行うことができます。
- ◆ 自動希釈、内部標準物質の自動添加によって作業の効率化を図ることができます。

■はじめに

溶出試験は、製剤の開発や品質管理、ジェネリック医薬品の生物学的同等性試験などで実施されます。溶出試験では、一定時間、一定条件下での医薬品の溶出性を確認します。時間ごとに複数のベッセルから溶出液を採取し、分析を行わなければならないため、作業量が多く、時間もかかります。また、手作業で行うサンプリングや希釈、内部標準物質 (ISTD) の添加などの前処理過程においてはヒューマンエラーが起きる可能性もあります。

Nexera FVは、溶出試験器とオートサンプラーをオンラインで接続したLCシステムです。溶出試験器からの溶出液分注、HPLC分析、レポート出力までの工程を自動化することが可能です。従来、オペレーターが手作業で行っていた業務の自動化、省力化とスループット向上が実現できます。

本稿では、Nexera FVを用いて、ISTDを自動で溶出液に添加し、USPに準拠した解熱鎮痛剤のオンライン溶出試験を行った例をご紹介します。オンライン溶出試験につきましては、アプリケーションニュース 01-00029と01-00031もご参照下さい。

■ Nexera FVを用いたオンライン溶出試験

図1にオンライン溶出試験における従来法とNexera FVを用いた方法、それぞれのワークフローと実際にかかった時間の比較例を示します。従来、手作業で行っていた指定時間での溶出液サンプリング、フィルタろ過、希釈、ISTDの添加、HPLC分析、レポート作成の工程を、自動化することができます。また、専用ソフトウェアDT-Solutionを用いてHPLC分析の設定が手軽に行え (図2参照)、分析終了と同時に溶出率など複数のデータをまとめたレポート (図3参照) が作成されます。

Nexera FVには、溶出試験器から送られた溶出液を直接HPLCに注入するダイレクト注入モードと、溶出液を一旦バイアルに分画してから分析を行うフラクション分析モードがあります。前者は、次のサンプリング時間までに分析が終わる超高速分析などの分析時間が短い場合に有効です。後者は、サンプリング間隔が短い試験や、希釈、ISTDの添加を行う場合に用います。

本稿では、フラクション分析モードを用いてISTDを自動で添加することにより、従来手作業で行っていた業務を効率化することができました。



図2 DT-Solutionの設定画面

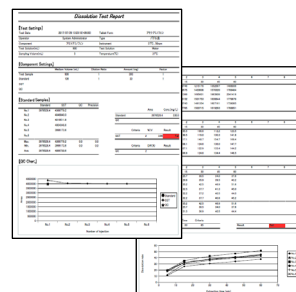


図3 マルチデータレポート¹⁾画面

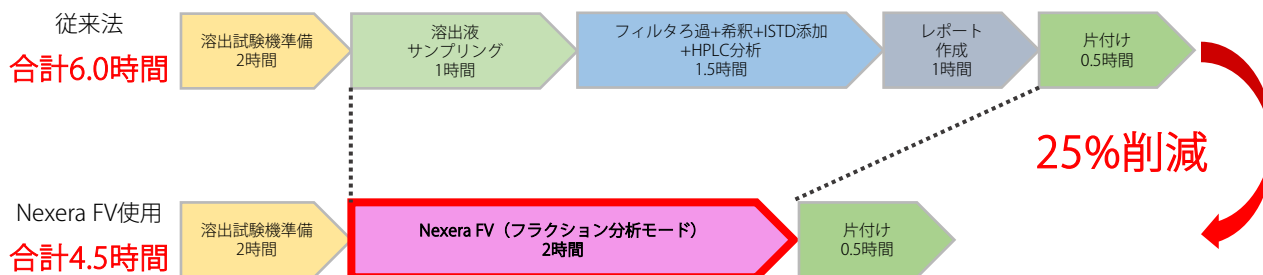


図1 オンライン溶出試験のワークフロー比較例²⁾

*1: マルチデータレポートはLabSolutions™DB/CSに対応したレポートの自動作成機能 (オプション) です。

*2: 記載時間は、溶出試験1時間、HPLC分析0.5時間 (1回6分の分析を6回実施) の解熱鎮痛剤の例です。

■ 前処理機能を用いた内部標準物質の添加

本稿では、内部標準法を用いて、解熱鎮痛剤中のアセトアミノフェン、アスピリン、カフェインの定量を行いました。標準試料および分注後の溶出液へのISTDの添加は、オートサンプラーSIL-30ACFVの前処理機能を用いて行いました。図5にオートサンプラーを用いたISTD添加の流れを、表1に前処理プログラムを示します。また、図4に表1の前処理プログラム実施時におけるオートサンプラー内のバイアル配置例を示します。試験開始前に、ISTDバイアル(①)をコントロールバイアルラックに、溶出試験器から溶出液が送液されてくるフローバイアルをフローバイアルラックにセットしておきます。また、溶出液分画用バイアル(②)および希釈・ISTD添加用バイアル(③)として空のバイアルを図4の位置にセットしておきます。試験を開始し、指定時間になると、(1)溶出試験器から溶出液が各フローバイアルに送液され、(2)オートサンプラーによって溶出液分画用バイアル(②)に分画されます。(3)その後、ISTDバイアル(①)中のISTDと溶出液分画用バイアル(②)に分画された溶出液をそれぞれノードルで指定量吸引して、希釈・ISTD添加用バイアル(③)に希釈液とともに吐出、混合しました。(4)最後に、(3)で調製したISTDを希釈添加した溶出液10 μLを希釈・ISTD添加用バイアル(③)からインジェクションポート(④)に注入しました。ISTDには安息香酸のメタノール溶液(添加前3600 mg/L)を、希釈液にはメタノール/氷酢酸=95:5を用いました。

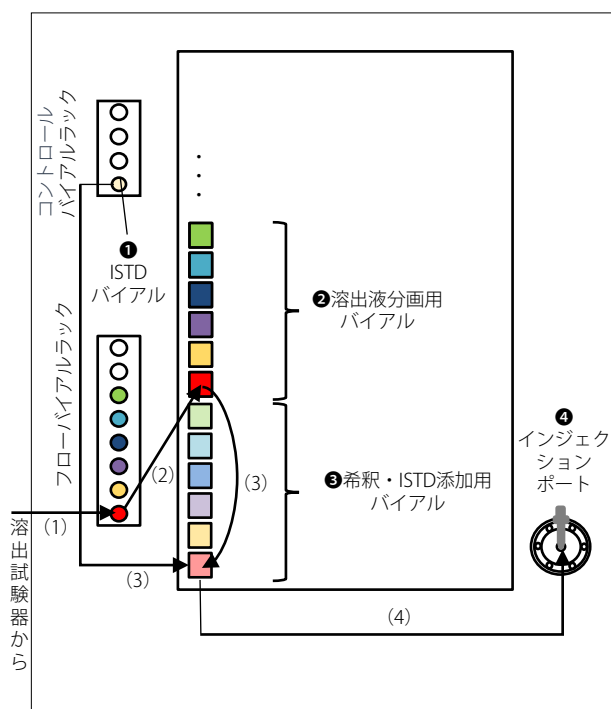


図4 オートサンプラー内のバイアル配置例

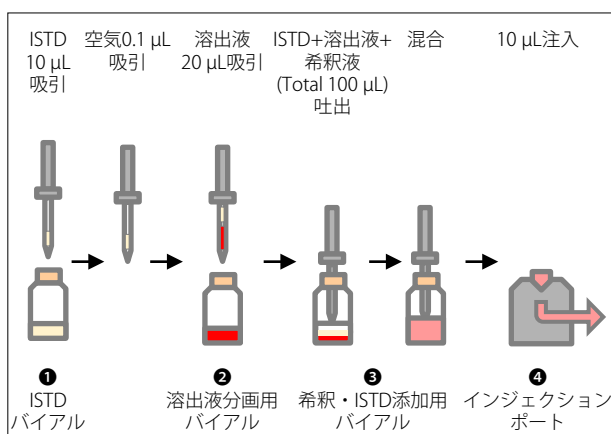


図5 オートサンプラーによる内部標準物質 (ISTD) 添加のフロー

表1 前処理プログラム

1	n.drain	13	n.strk ns
2	disp 600,rs	14	disp 100,ss
3	vial.n 0,9	15	mix 3,5,45,2,10
4	n.strk 52	16	n.drain
5	aspir 10,ss	17	disp 600,rs
6	air.a 0.1,ss	18	d.rinse
7	d.rinse	19	inj.p
8	a0=sn+6	20	v.inj
9	vial.n 1,a0	21	wait 2.0
10	n.strk ns	22	goto f0
11	aspir 20,ss	23	end
12	vial.n rn,sn		

■ システム適合性試験

表2に分析条件を、図6にアセトアミノフェン、アセチルサリチル酸、カフェイン混合標準品のクロマトグラムを示します。アセチルサリチル酸の加水分解によって生成したサリチル酸もわずかながら含有されており、ピークとして出現していると考えられます。

また、表3にシステム適合性試験の結果を示します。分析条件は、米国薬局方USP43-NF Acetaminophen, Aspirin, and Caffeine Tablets DISSOLUTION¹⁾に収載の試験条件を用いました。表4にUSP43-NFのシステム適合性試験の合格基準を示します。システム適合性は、各標準品100 mg/Lの溶液について表2の条件で、繰り返し6回の分析を行い確認しました。システムの性能、システムの再現性ともにUSP43-NF収載の基準を満たしていました。

表2 HPLC条件

Column	Shim-pack™ Scepter C18-120 ^{*1} (100 mm×4.6 mm I.D., 5 μm)
Mobile phase	Methanol / Glacial Acetic Acid / Water = 28 : 3 : 69
Flow rate	2 mL/min
Column temp.	45 °C
Injection vol.	10 μL
Vial	Shimadzu Vial, LC, 1.1 mL, Glass ^{*2} Shimadzu Vial, LC ^{*3}
Detection	UV 275 nm

*1 P/N : 227-31020-04 *2 P/N : 228-21283-91

*3 P/N : 228-31600-91

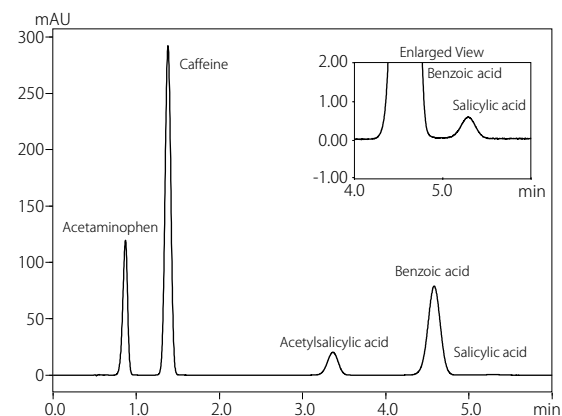


図6 アセトアミノフェン・アセチルサリチル酸・カフェイン混合標準品 (100 mg/L) のクロマトグラム

表3 システム適合性試験の結果 (各100 mg/L)

Suitability requirements		Target Compound			Internal Standard	Judgement
		Acetaminophen	Caffeine	Acetylsalicylic acid	Benzoic Acid	
Resolution (n=6)	≥1.4	19.32	15.73	4.66		PASSED
Tailing factor (n=6)	≤1.2	0.87	0.98	0.94	0.97	PASSED
Retention Time (%RSD)	≤2.0	0.08	0.07	0.28	0.17	PASSED
Area (%RSD)	≤2.0	0.36	0.38	0.35	0.44	PASSED

表4 システム適合性試験合格基準 (USP-NF-49)

Resolution	≥1.4 between any of the analyte and ISTD
Tailing factor	≤1.2 for each analyte peak
Relative standard deviation	≤2.0%

■ 溶出試験

表5に市販の解熱鎮痛剤の溶出条件を、図7に市販の解熱鎮痛剤の溶出液のクロマトグラムを示します。HPLC分析条件は表2と同様です。溶出液を指定時間に自動でサンプリング、ろ過、Nexera FVを用いて内部標準物質を自動添加し、分析しました。

表6に溶出時間60分での各成分の溶出率を示します。米国薬局方 USP-NF-49 Acetaminophen, Aspirin, and Caffeine Tablets DISSOLUTIONでは、溶出試験許容範囲は、溶出時間60分以内にアセトアミノフェン、アセチルサリチル酸、カフェインの3成分について表示量の75%が溶出していることとされています。本試験では、いずれの成分、いずれのベッセルについても、溶出時間60分での溶出率が75%以上であり、USP許容範囲内でした。

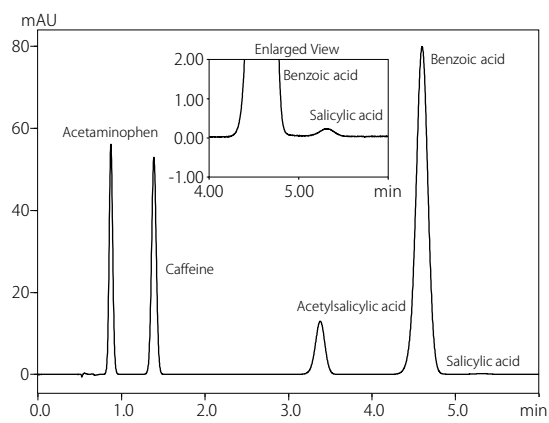


図7 解熱鎮痛剤のクロマトグラム (溶出時間 60分)

表5 溶出条件

System	NTR-6600AST (TOYAMA SANGYO CO., LTD.)
Dissolution method	Paddle
Dissolution media	Pure water
Media volume	900 mL
Rotation speed	100 rpm
Bath temperature	37 °C
Total time	60 min
Sampling time	60 min

表6 解熱鎮痛剤溶出試験の溶出率* (溶出時間 60分、%)

Compound / Vessel No.	Acetaminophen	Caffeine	Acetylsalicylic acid
1	109.3	123.1	104.6
2	106.4	121.5	109.7
3	107.7	122.9	105.6
4	108.9	119.3	103.7
5	113.2	131.8	102.8
6	110.7	121.2	103.2
Judgement	PASSED	PASSED	PASSED

* 溶出率(%)= 濃度(mg/L)×試験液量 0.9(L)/ 表示量 (mg)×100

■ まとめ

アセトアミノフェン、アセチルサリチル酸、カフェインを含有する解熱鎮痛剤についてUSPに準拠したオンライン溶出試験を行いました。Nexera FVを用いて内部標準物質の希釈添加を自動で行うことで、従来法と比べて大幅に作業時間を削減し、業務を効率化することができました。その結果、全行程にかかる約25%の時間を削減できることを確認しました。

[参考文献]

1) USP43-NF 38-49 "Acetaminophen, Aspirin, and Caffeine Tablets DISSOLUTION"

Nexera、LabSolutionsおよびShim-pack Scepter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 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

01-00030-JP 初版発行：2021年9月

島津コールセンター ☎ 0120-131691