

Application News

No. L479

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

“Prominence-i”による医薬品不純物分析のメソッド移管と高速化

Method Transfer and High Speed Analysis of Impurities of Drug by “Prominence-i”

平成 26 年 2 月に、第十六改正第二追補が発行されました。ここに新たに掲載されることとなった、医薬品各条（化学薬品等）新記載項目のベポタスチンベシル酸塩¹⁾は、選択性ヒスタミン H₁ 拮抗薬、アレルギー性疾患治療薬として、アレルギー性鼻炎や痒み止めなどの医薬品に含まれています。

ここでは、新一体型高速液体クロマトグラフ “Prominence-i” を用いて、ベポタスチンベシル酸塩の類縁物質を日本薬局方に準拠して分析する場合に、従来製品である一体型 LC-2010、あるいは他社 LC と “Prominence-i”（標準構成または遅れ容量互換システムキット付）を、それぞれ用いて得られた分析結果を比較し、従来製品や他社 LC からのメソッド移管事例を紹介いたします。合わせて、“Prominence-i”（低遅れ容量システムキット付）により、日本薬局方既定の条件から、分析時間を約 1/4 となるように高速化した分析事例をご紹介します。

N. Iwata

■ベポタスチンベシル酸塩標準品分析のメソッド移管

Method Transfer of Analysis of Standard of Bepotastine Besilate

日本薬局方（JP）に基づき、ベポタスチンベシル酸塩の純度試験（2）類縁物質項目に沿って分析しました。ベポタスチンベシル酸塩の標準溶液（4 mg/L）の分析条件を Table 1 に示します。Fig. 1 の上段には他社 LC システム、下段には “Prominence-i” で採取したクロマトグラムを示します。同様に、Fig. 2 の上段には LC-2010、下段にはオプションの “遅れ容量互換システムキット” を使用し、“Prominence-i” で採取したクロマトグラムを示します。Fig. 1, 2 より、他社 LC システム、および、LC-2010 と “Prominence-i” は分離互換性を有していることがわかります。

日本薬局方に記載されている純度試験（2）類縁物質のシステム適合性項目に記載されている試験を行いました。次頁の Table 2 にシステム適合性試験結果を示します。これより、日本薬局方で規定されている全ての項目を満たしていることがわかります。

Table 1 分析条件
Analytical Conditions

Column	: Shim-pack VP-C8 (150 mm L × 4.6 mm I.D., 5 μm)
Flow Rate	: 1.0 mL/min
Mobile Phase	: A) 50 mmol/L Phosphate (Potassium) Solution (pH 3.0) B) Acetonitrile Containing 5.7 mmol/L 1-pentanesulfonate monohydrate B Conc. 30 %
Column Temp.	: 40 °C
Injection Volume	: 20 μL
Detection	: LC-2030C 3D at 220 nm
Flow Cell	: Conventional Cell for Integrated

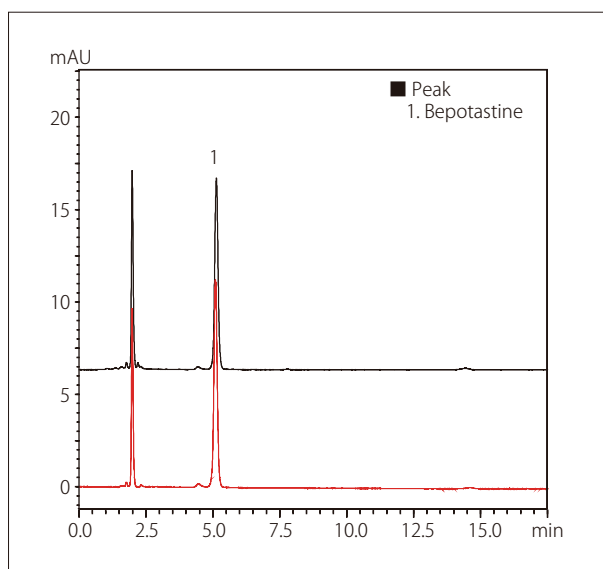


Fig. 1 ベポタスチンベシル酸塩のクロマトグラム
上段：他社 LC システム
下段：“Prominence-i”
Chromatograms of Bepotastine Besilate
Upper : Other Company LC System
Lower : “Prominence-i”

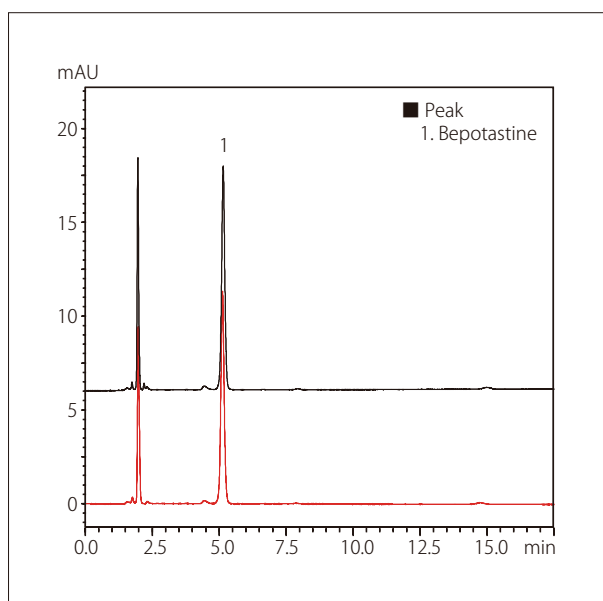


Fig. 2 ベポタスチンベシル酸塩のクロマトグラム
上段：LC-2010
下段：“Prominence-i”（遅れ容量互換システムキット使用）
Chromatograms of Bepotastine Besilate
Upper : LC-2010
Lower : “Prominence-i”
(with Delay Volume-Compatible System Kit)

Table 2 システム適合性結果
Results of System Suitability Test in the Japanese Pharmacopeia (JP)

配管キット		システム適合性項目		基準値	JP条件	判定	
コンベンショナル (Fig. 1下段)	なし (標準配管)	検出の確認	ピーク面積値 (標準溶液を20倍希釈した溶液)	$3.5 \leq X \leq 6.5$	5.0	PASS	
		システムの性能	理論段数	Bepotastine	≥ 3000	8300	PASS
			シンメトリ係数	Bepotastine	$0.8 \leq Y \leq 1.5$	1.01	PASS
		システムの再現性	相対標準偏差	Bepotastine	ピーク面積値	≤ 2.0	0.16
LC-2010コンパチブル (Fig. 2下段)	遅れ容量互換 システムキット	検出の確認	ピーク面積値 (標準溶液を20倍希釈した溶液)	$3.5 \leq X \leq 6.5$	5.2	PASS	
		システムの性能	理論段数	Bepotastine	≥ 3000	8500	PASS
			シンメトリ係数	Bepotastine	$0.8 \leq Y \leq 1.5$	1.01	PASS
		システムの再現性	相対標準偏差	Bepotastine	ピーク面積値	≤ 2.0	0.13
高速化 (Fig. 3)	低遅れ容量 システムキット	検出の確認	ピーク面積値 (標準溶液を20倍希釈した溶液)	$3.5 \leq X \leq 6.5$	4.8	PASS	
		システムの性能	理論段数	Bepotastine	≥ 3000	9400	PASS
			シンメトリ係数	Bepotastine	$0.8 \leq Y \leq 1.5$	1.22	PASS
システムの再現性	相対標準偏差	Bepotastine	ピーク面積値	≤ 2.0	0.27	PASS	

■ベポタスチンベシル酸塩類縁物質の高速化

High Speed Analysis of Impurities of Bepotastine Besilate

超高速分析用カラムを用いて、ベポタスチンベシル酸塩の類縁物質の高速化を検討しました。高速化に際し、オプション配管キット“低遅れ容量システムキット”を用いました。

Fig. 3 下段はベポタスチンベシル酸塩の標準溶液(4 mg/L)をTable 3の分析条件で測定したクロマトグラムです。上段はFig. 1下段と同じです。Fig. 3下段のクロマトグラムより、約1.2分に主成分であるベポタスチンのピークを検出しました。また、分離を保ったまま分析時間、および、移動相消費量を約1/4に抑えることができました。感度はFig. 1のコンベンショナル分析に比べ、約8.5倍の結果を得ました。

Table 2にシステム適合性結果を示します。高速化した場合でも、日本薬局方で規定されている全ての項目を満たしていることがわかります。

Table 3 分析条件 - 高速化 -
Analytical Conditions -High Speed Analysis-

Column	: Shim-pack XR-C8 (75 mm L × 3.0 mm I.D., 2.2 μm)
Flow Rate	: 1.0 mL/min
Mobile Phase	: A) 50 mmol/L Phosphate (Potassium) Solution (pH 3.0) B) Acetonitrile Containing 5.7 mmol/L 1-pentanesulfonate monohydrate B Conc. 30 %
Column Temp.	: 40 °C
Injection Volume	: 1 μL
Detection	: LC-2030C 3D at 220 nm
Flow Cell	: High-speed High-sensitivity Cell

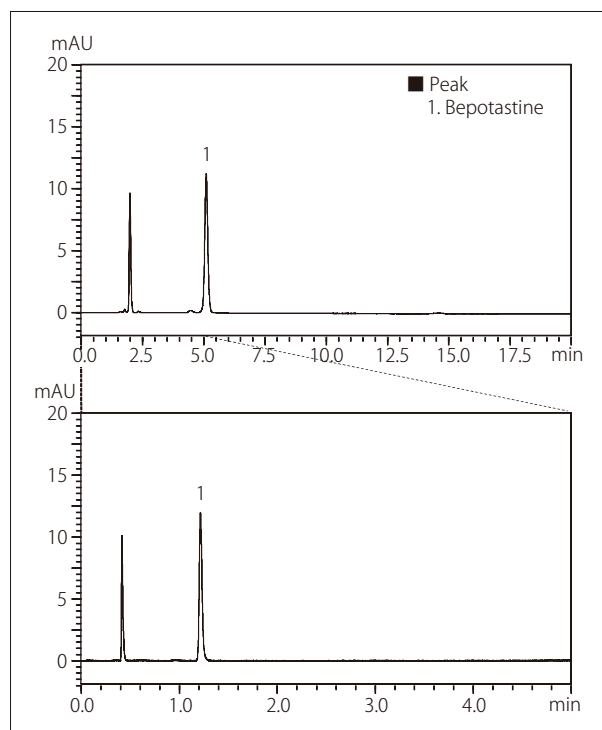


Fig. 3 ベポタスチンベシル酸塩のクロマトグラム - 高速化 -
上段：コンベンショナル
下段：高速化 (低遅れ容量システムキット使用条件)
Chromatograms of Bepotastine Besilate -High Speed Analysis-
Upper: Conventional Analysis
Lower: High Speed Analysis
(with Delay Volume-Compatible System Kit)

[参考文献]

- 1) 第十六改正 日本薬局方第二追補
医薬品各条 (化学薬品等) ベポタスチンベシル酸塩