

Application News

No. L539A

高速液体クロマトグラフィー

フォトダイオードアレイ検出器SPD-M40のUVカットオフフィルタを用いた定量性向上

イブプロフェンは非ステロイド系抗炎症剤 (NSAIDs) の一種で、解熱や鎮痛剤として広く使用されていますが、貯蔵時の安定性試験において温度や酸化、光照射などで分解物を生じる事が報告されています。特に 4-イブチルアセトフェンにおいては、面積百分率が加速試験前は 10%以下であったのに対し、72時間の光照射加速試験後は約 40%に増加したことが示されています¹⁾。

超高速液体クロマトグラフ Nexera™シリーズのフォトダイオードアレイ検出器 SPD-M40 は、イブプロフェンのように光分解しやすい化合物をより正確に定量するために、紫外線領域の光を除く UV カットオフフィルタを標準装備しています。ここでは、SPD-M40 の UV カットオフフィルタ機能を用いたイブプロフェンの定量性改善に関する事例をご紹介します。

*1 すべての成分に対して UV カットオフフィルタが有効という訳ではありません。

*2 本機能はライオン株式会社様から頂戴したご意見を元に開発しました。

H. Terada, K. Matsumoto

■ UV カットオフフィルタについて

フォトダイオードアレイ検出器 (PDA) は、紫外線領域を含む白色光を試料セルに照射し、その透過光を分光して特定の波長の吸光度を測定します。つまり、エネルギーの大きな短波長の UV 光も照射されています。図 1 に UV カットオフフィルタを使用しない場合のフローセル内のイメージを示します。イブプロフェンのような光分解性を有する分析対象化合物は、UV 光の照射によって検出中に光分解物を生じます。

その結果、分析対象化合物が本来の含有量より減少し、光吸収特性の異なる分解物が同時に検出される事で、定量結果に影響を及ぼす可能性があります。

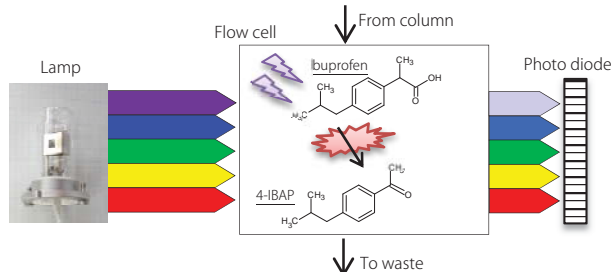


図 1 UV カットオフフィルタを使用しない場合のフローセル

図 2 に UV カットオフフィルタを使用する場合のフローセル内のイメージを示します。エネルギーの大きな短波長 UV 光はフローセルに照射されないため、検出時における目的化合物の分解を抑制することができ、分解物の影響を受けることなく定量が可能です。

SPD-M40 では、240 nm 以下の光を透過しないカットオフフィルタを使用しており、セルに入射する光量は全波長である程度減少するものの、紫外領域の光の入射量は特に大幅に低減されます。

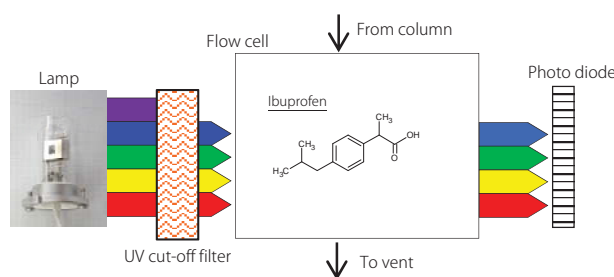


図 2 UV カットオフフィルタを使用した場合のフローセル

UV カットオフフィルタの使用の有無は LabSolutions™ で設定が可能であり (図 3)、分析メソッドごとに使用の有無が設定できるため、用途に合わせて使用の有無を選択できます。



図 3 SPD-M40 の UV カットオフフィルタ機能設定画面

■ イブプロフェン標準試料の分析における UV カットオフフィルタの効果

UV カットオフフィルタの使用有無のみ異なる両条件で同一のイブプロフェン標準溶液 (5~75 mg/L) を分析しました。分析条件を表 1 に示します。

表 1 分析条件

Column	: Shim-pack Velox™ C18 (3 mm×100 mm, 2.7 μm)
Mobile phase	: 0.1 % Formic acid aq./Acetonitrile =2/3 (v/v)
Flow rate	: 0.4 mL/min
Column temp.	: 40 °C
Injection vol.	: 10 μL
Detection	: SPD-M40 at 262 nm (190 - 400 nm)

UV カットオフフィルタ使用なしで取得した標準試料のクロマトグラムとイブuprofenピークのスペクトルを図4に、得られた検量線を図5に、各検量点の誤差率を表2に示します。低濃度領域において、吸光係数の大きな分解物の影響を受け、検量線の切片が高くなっていると考えられます。その結果、低濃度領域の検量線誤差率が大きくなっています。

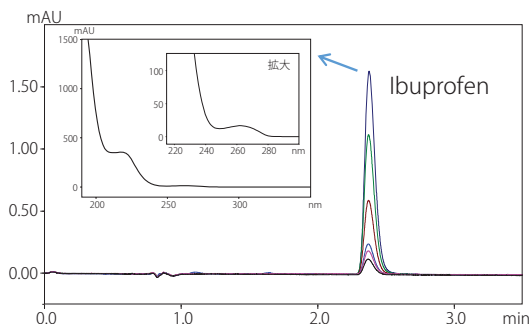


図4 UV カットオフフィルタ未使用時のイブuprofen標準試料 (5~75 mg/L) クロマトグラムとスペクトル (75 mg/L)

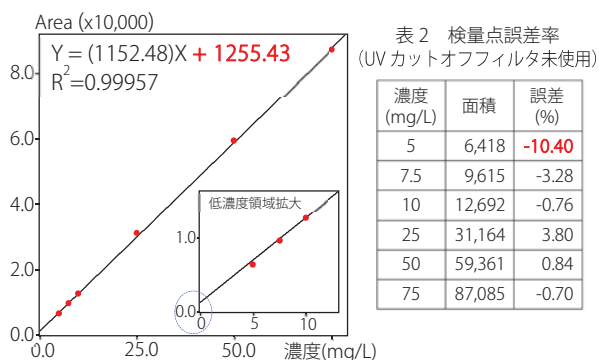


図5 検量線 (UV カットオフフィルタ未使用)

UV カットオフフィルタ使用なしで検量点の最低濃度である5 mg/Lの標準試料を6回連続分析を行い、上記の検量線で定量した結果を表3に示します。定量値は約10%小さく値付けされており、低濃度の定量時には誤差が生じています。

表3 検量点最低濃度 (5 mg/L) 試料の定量値 (UV カットオフフィルタ未使用)

	保持時間	面積	濃度(mg/L)
1	2.366	6,462	4.517
2	2.380	6,319	4.394
3	2.376	6,508	4.558
4	2.378	6,339	4.411
5	2.377	6,371	4.439
6	2.378	6,468	4.523
平均	2.376	6411	4.474
RSD(%)	0.21	1.22	1.51

UV カットオフフィルタ使用有りて取得した標準試料のクロマトグラムとイブuprofenピークのスペクトルを図6に、得られた検量線を図7に、各検量点の誤差率を表4に示します。短波長 UV 光がセルに照射されず、UV の分解物の影響がないため、同一サンプルを分析していても、未使用時と比べて良好な直線性が得られ検量線誤差率も小さく低濃度実試料においても正確な定量が可能になります。

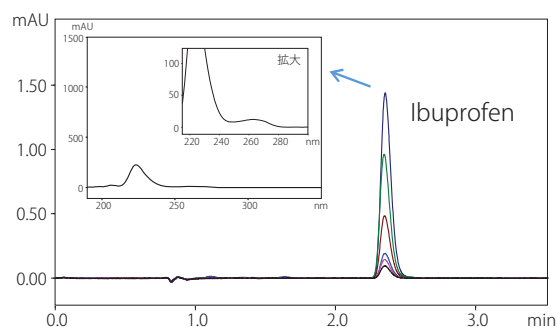


図6 UV カットオフフィルタ使用時のイブuprofen標準試料 (5~75 mg/L) クロマトグラムとスペクトル (75 mg/L)

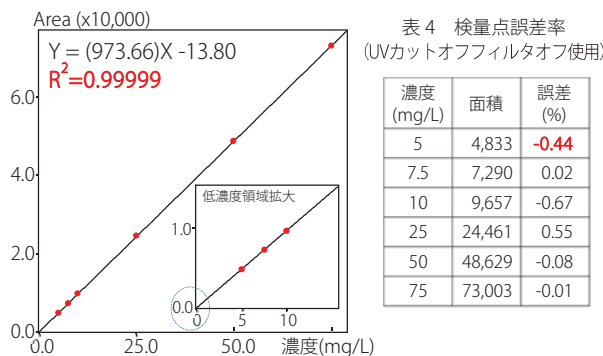


図7 検量線 (UV カットオフフィルタ使用)

表4 検量点誤差率 (UVカットオフフィルタ使用)

濃度 (mg/L)	面積	誤差 (%)
5	4,833	-0.44
7.5	7,290	0.02
10	9,657	-0.67
25	24,461	0.55
50	48,629	-0.08
75	73,003	-0.01

UV カットオフフィルタ使用ありで検量点の最低濃度である5 mg/Lの標準試料を6回連続分析を行い、上記の検量線で定量しました。

結果を表5に示します。定量値は正確に値付けされており、面積値再現性も UV カットオフフィルタ未使用時に比べて改善しています。

UV カットオフフィルタは、短波長 UV 光で分解しやすい成分の定量に非常に有用です。

表5 検量点最低濃度 (5 mg/L) 試料の定量値 (UV カットオフフィルタ未使用)

	保持時間	面積	濃度(mg/L)
1	2.354	4,882	5.028
2	2.352	4,843	4.988
3	2.350	4,844	4.990
4	2.353	4,859	5.005
5	2.353	4,829	4.974
6	2.351	4,840	4.985
平均	2.351	4,849	4.995
RSD(%)	0.06	0.38	0.38

<参考文献>

- 1) S. Farmer et al, "Forced Degradation of Ibuprofen in Bulk Drug and Tablets and Determination of Specificity, Selectivity, and the Stability Indicating Nature of the USP Ibuprofen Assay Method" Pharmaceutical Technology North America, 26 (5), 28-42 (May 2002)

Nexera, LabSolutions, および Shim-pack Velox 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。