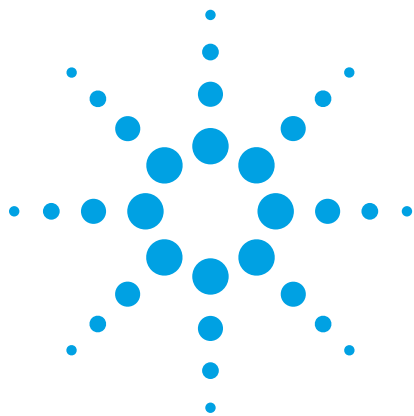




Agilent Poroshell 120 EC-CN および SB-C8 カラムを使用した ワルファリンナトリウム錠剤の USP 分析

アプリケーションノート

医薬品

著者

Anne Mack
Agilent Technologies, Inc.

概要

ワルファリン、ワルファリン関連化合物 A、およびプロピルパラベンを、ワルファリンナトリウム錠剤の米国薬局方 (USP) 分析に従って分析しました。表面多孔質 Agilent Poroshell 120 カラムを使用することで、USP 推奨の 5 μm カラムを使用した場合よりも純度分析と定量分析の効率改善ができました。Poroshell 120 カラムを使用して、各メソッドを USP Chapter 621 のガイドライン内で調整し、時間の短縮と溶媒の削減を可能にしました。性能が向上した表面多孔質カラム分析では、すべてのクロマトグラフィーシステム要件が満たされました。

はじめに

大きい 5 μm の全多孔質粒子から表面多孔質粒子への LC メソッドの変換が大きな注目を集めています。表面多孔質粒子の高い効率は 2 μm 未満の全多孔質粒子と類似しています。これは、主に短い質量移動距離と狭い粒子サイズ分布によるものです。さらに、粒子サイズが大きいと背圧が低くなり、これらのカラムをほとんどすべての LC システムに設置できるようになります。粒子サイズの大きいカラムからの変換の利点は、時間短縮とコスト削減が非常に大きいことです。これは、表面多孔質粒子が速い流量で最適に動作し、非常に短いカラム長で同様の解像度を達成するからです [1、2]。

このアプリケーションノートでは、推奨の 5 μm カラムから短い 2.7 μm 表面多孔質 Agilent Poroshell 120 カラムに変換した、ワルファリンナトリウム錠剤分析用の 2 つの USP メソッドについて説明します。分析でカラム安定性を確保するための USP のクロマトグラフィーシステム要件と各分析を比較しました。すべてのメソッド変更は USP Chapter 621 で許可されています。



Agilent Technologies

実験方法

Agilent 超低拡散キット (p/n 5067-5189) の内径 0.075 mm の短いキャピラリーと Agilent LC システムラック (p/n 5001-3726) を使用して、カラム外容量ができる限り小さくなるように機器の設定を最適化しました [3]。分析メソッドパラメータは USP で指定されたものと同じです。

ワルファリンおよびプロピルパラベン は Sigma-Aldrich Corp. から購入し、ワルファリン関連化合物 A は USP から入手しました。アセトニトリルは Honeywell International Inc. から購入しました。水は 18 Mohm.cm の Milli-Q を使用しました。

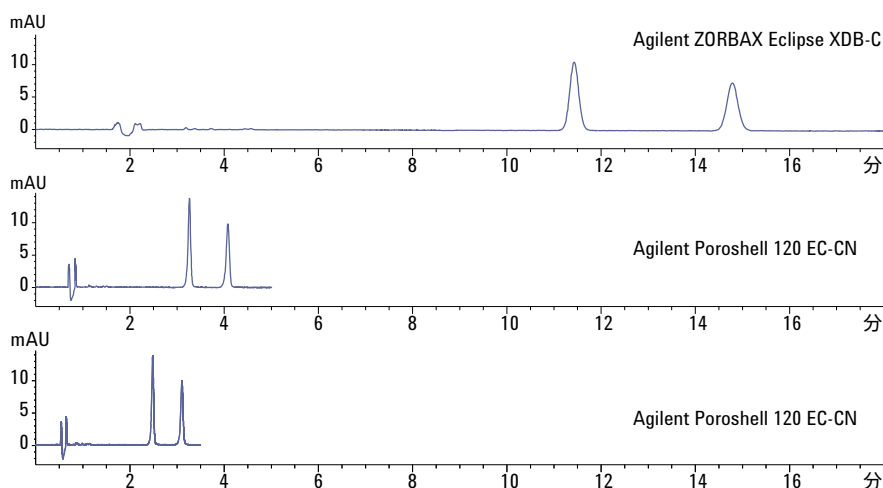
結果と考察

ワルファリンナトリウム錠剤の USP 法での純度分析

図 1 に、ワルファリンナトリウム錠剤の USP 法での純度分析クロマトグラムを示します。上のクロマトグラムは、USP の指定に従い、L10 が充填された 4.6×250 mm、 $5 \mu\text{m}$ カラム (この場合は ZORBAX Eclipse XDB-CN カラム) で実行した分析を示しています。この 2 つの化合物は約 16 分間で容易に分離されました。

溶出順序

1. ワルファリン ($6 \mu\text{g/mL}$)
2. ワルファリン関連化合物 A ($6 \mu\text{g/mL}$)



条件

カラム :	Agilent Poroshell 120 EC-CN、 3.0×100 mm、 $2.7 \mu\text{m}$ (p/n 695975-305) Agilent ZORBAX Eclipse XDB-CN、 4.6×250 mm、 $5 \mu\text{m}$ (p/n 990967-905)
サンプル :	ワルファリン ($6 \mu\text{g/mL}$)、ワルファリン関連化合物 A ($6 \mu\text{g/mL}$)
溶離液 :	A = 0.1 % CH_3COOH 水溶液 B = CH_3OH
注入量 :	4.6×250 mm カラムで $20 \mu\text{L}$ 、 3.0×100 mm カラムで $3.5 \mu\text{L}$
流量 :	4.6×250 mm カラムで 1.5 mL/min 、 3.0×100 mm カラムで 0.64 mL/min または 0.85 mL/min
アイソクラティック :	32 % B
温度 :	25°C
検出器 :	260 nm
機器 :	Agilent 1290 Infinity LC

図 1. Agilent ZORBAX Eclipse XDB-CN および Agilent Poroshell 120 EC-CN カラムを使用したワルファリンナトリウム錠剤の USP 法での純度分析クロマトグラム。下のクロマトグラムは、最適な流量で使用了 Agilent Poroshell 120 EC-CN カラムを示します。

USP Chapter 621 のガイドラインに従って、 4.6×250 mm、 $5 \mu\text{m}$ の分析を 3.0×100 mm、 $2.7 \mu\text{m}$ Agilent Poroshell 120 EC-CN カラムに変換できます。これを図 1 の中央のクロマトグラムに示します。下のクロマトグラムは、同じ Poroshell 120 EC-CN カラムを最適な流量で使用した場合です。ここでは希望の分離を 3 分間で達成しています。

USP クロマトグラフィーシステム要件と、図 1 に示した 3 つの各クロマトグラムの測定値を表 1 に示します。 $5 \mu\text{m}$ カラムだけではなく、 $2.7 \mu\text{m}$ Poroshell 120 カラムもこの分析に適していました。さらに、Poroshell 120 カラムを最適な流量で使用すると、元の分析と比較して大幅な時間の短縮と溶媒の削減が可能になり、生産性が向上すると同時に大幅なコスト削減が実現します。

表 1. ワルファリンナトリウム錠剤の純度分析に関する USP クロマトグラフィーシステム要件および測定値
(W はワルファリン、A はワルファリン関連化合物 A の測定値を示す)

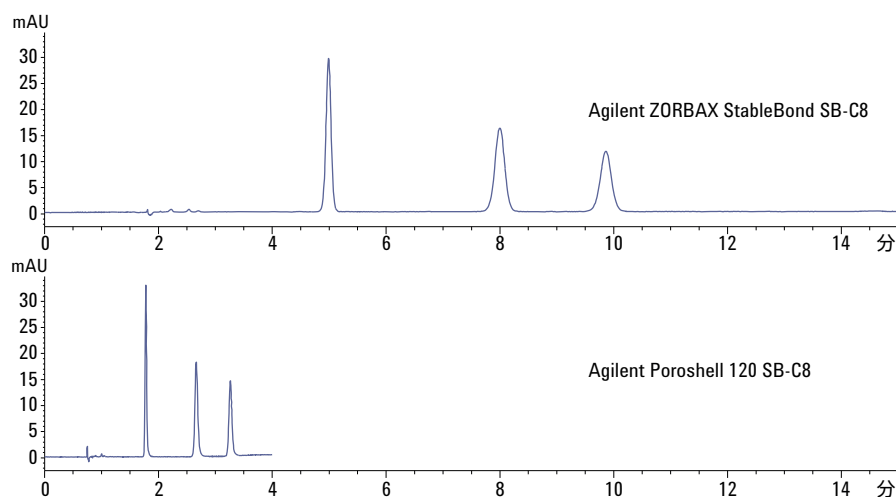
USP のクロマトグラフィーシステム要件	$5 \mu\text{m}$ (1.5 mL/min)	$2.7 \mu\text{m}$ (0.64 mL/min)	$2.7 \mu\text{m}$ (0.85 mL/min)
ワルファリンとワルファリン関連化合物 A の間の分離能は 3 以上	R_s (W, A): 8.3	R_s (W, A): 7.1	R_s (W, A): 7.1
繰り返し注入の相対標準偏差は 5.0 % 以下	W: 0.10 % A: 0.10 %	W: 0.10 % A: 0.10 %	W: 0.94 % A: 0.10 %
ワルファリンおよびワルファリン関連化合物 A の相対リテンションタイムは 1.0 および約 1.2	W: 1.0 A: 1.3	W: 1.0 A: 1.3	W: 1.0 A: 1.3

ワルファリンナトリウム錠剤の USP 法での定量分析

図 2 に、プロピルパラベンを内部標準としたワルファリンナトリウム錠剤の USP 法での定量分析クロマトグラムを示します。上のクロマトグラムは、USP で指定された 4.6×250 mm、 $5 \mu\text{m}$ L7 (ZORBAX StableBond SB-C8) カラムを使用して得られたものです。下のクロマトグラムは、 4.6×100 mm、 $2.7 \mu\text{m}$ Poroshell 120 SB-C8 カラムに直接変換したものです。この分析では、Poroshell 120 カラムは圧力制限のために最適な流量では使用できませんでした。ただし、この制約にもかかわらず、これらの 3 つの化合物の分析時間は Poroshell 120 カラムの使用により 10 分から 3.5 分未満まで短縮されました。

溶出順序

1. プロピルパラベン ($10 \mu\text{g/mL}$)
2. ワルファリン ($5 \mu\text{g/mL}$)
3. ワルファリン関連化合物 A ($5 \mu\text{g/mL}$)



条件

カラム：	Agilent Poroshell 120 SB-C8、 4.6×100 mm、 $2.7 \mu\text{m}$ (p/n 685975-906) Agilent ZORBAX StableBond SB-C8、 4.6×250 mm、 $5 \mu\text{m}$ (p/n 880975-906)
サンプル：	ワルファリン ($5 \mu\text{g/mL}$)、ワルファリン関連化合物 A ($5 \mu\text{g/mL}$)、プロピルパラベン ($10 \mu\text{g/mL}$)
溶離液：	A = 0.1 % CH_3COOH 水溶液 B = CH_3OH
注入量：	4.6×250 mm カラムで $15 \mu\text{L}$ 、 4.6×100 mm カラムで $5 \mu\text{L}$
流量：	1.4 mL/min
アイソクラティック：	64 % B
温度：	30°C
検出器：	280 nm
機器：	Agilent 1290 Infinity LC

図 2. Agilent ZORBAX StableBond SB-C8 と Agilent Poroshell 120 SB-C8 カラムを使用したワルファリンナトリウム錠剤の USP 法での定量分析クロマトグラム

表 2 に示すように、すべてのクロマトグラムは USP のクロマトグラフィーシステム要件を満たしています。表面多孔質 Poroshell 120 カラムを従来の 5 μm カラムの代わりに使用することで、容易にコストを削減し、生産性を向上することができます。

表 2. ワルファリンナトリウム錠剤の定量分析に関する USP クロマトグラフィーシステム要件および測定値
(P はプロピルパラベン、W はワルファリン、A はワルファリン関連化合物の測定値を示す)

USP のクロマトグラフィーシステム要件	5 μm (1.4 mL/min)	2.7 μm (1.4 mL/min)
プロピルパラベンおよびワルファリンの相対リテンションタイムは約 0.75 および約 1.0	P: 0.63 W: 1.0	P: 0.67 W: 1.0
プロピルパラベンとワルファリンの間の分離能は 2.0 以上	Rs (P, W): 12.0	Rs (P, W): 12.5
繰り返し注入の相対標準偏差は 2.0 % 以下	P: 0.26 % W: 0.26 % A: 0.16 %	P: 0.10 % W: 0.73 % A: 0.97 %

結論

ワルファリンナトリウム錠剤の USP クロマトグラフィー純度およびアッセイ分析で、従来の 5 μm カラムの代わりに表面多孔質 Agilent Poroshell 120 カラムを使用することに成功しました。サイズの小さい Poroshell 120 カラムを使用すると、大きい 5 μm カラムよりも生産性が向上し、時間が短縮され、コストが削減されると同時に、クロマトグラフィーシステムのすべての USP 要件を満たすことができました。

参考文献

- [1]. A. Gratzfeld-Hüsken, E. Naegel. "Maximizing efficiency using Agilent Poroshell 120 columns". Application Note, Agilent Technologies, Inc. Publication Number 5990-5602EN (2010).
- [2]. V. R. Meyer. *Practical High Performance Liquid Chromatography*, Fourth Ed., p. 34. Wiley (2004).
- [3]. A. Mack. "Optimizing Performance of an Agilent ZORBAX RRHD Eclipse Plus C18 Column by Enhancing an Agilent 1290 Infinity LC System for Ultra-Low Dispersion". Application Note, Agilent Technologies, Inc. Publication Number 5990-9502EN (2011).

詳細情報

これらのデータは一般的な結果を示したものです。アジレントの製品とサービスの詳細については、アジレントのウェブサイト www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。

本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本文書を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc., 2013
Printed in Japan
January 3, 2013
5991-1686JAJP



Agilent Technologies