

医薬品試験の効率化に関する検討

—グラジエント法を用いたイオヘキソールの純度試験の室間再現性の検討—

竹林 憲司, 薬事研究会分析部会

緒言

医薬品試験において多成分同時定量および分析時間の短縮などの効率化が求められており、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) が多用されている。HPLC において移動相の組成を連続的に変化させることによって成分を溶出させるグラジエント法が存在する。その手法を用いることによって複数成分の分離の改善や短時間で成分を溶出させることが可能である。しかし、使用機器により保持時間の差が大きいことから再現精度がよくないと考えられていた。一昨年、分析部会においてグラジエント法を用いたかぜ薬成分の分析法の検討により同時分析および室間再現性、定量性に問題ないことが確認されている¹⁾。また、昨今までは製剤化された医薬品をターゲットとしてきた。そこで本検討では、医薬品試験のさらなる効率化を図ることを目的として、グラジエント法を用いた原薬等の純度試験の室間再現性及び定量性を検証したので報告する。

方法及び結果

1. グラジエント遅れの測定

グラジエント法は設定したグラジエントプログラムに対して実際のグラジエントは少し遅れて始まり、このグラジエントの遅れは使用する分析機器によって異なる。そこで5社のグラジエント遅れについて測定したところ、グラジエント遅れは、最小で1分、最大で2.8分であることが分かった。したがって、分析に使用する HPLC 装置のグラジエント遅れを統一するため、実際のグラジエントが3.5分後に開始されるようにグラジエントプログラムを各装置で補正した。

2. イオヘキソールの選定とグラジエント分析条件

イオヘキソールは安定性が高く、有害性もないため取り扱いが容易であることと、純度試験における移動相の組成が水・アセトニトリルで調製が容易であり、試験者間の試液調製の誤差が減らせると考えイオヘキソールを選定した。

試料溶液の調製

試薬イオヘキソール 0.15 g を水に溶かし、100 mL とし、試料溶液とする。

システム適合性試験用溶液の調製

試料溶液 1 mL に水を加えて 50 mL とし、システム適合性試験用溶液とする。

検出の確認用溶液の調製

システム適合性試験用溶液 1 mL を正確に量り、水を加えて正確に 20 mL とする。

[試験条件]

検出器：紫外吸光光度計 (測定波長：254 nm)

カラム：内径 4.6 mm, 長さ 25 cm のステンレス管に 5 μ m の液体クロマトグラフィー用オクタデシルシリル化シリカゲルを充填する。 Lot. 8IR96132

カラム温度：25℃付近の一定温度

移動相 A：アセトニトリル

移動相 B：水

流量：1.0 mL/min

注入量：10 μ L

移動相の送液：移動相 A 及び移動相 B の混合比を次のように変えて濃度勾配制御する。

グラジエント条件

(グラジエント遅れが 1 分の分析機器の場合)

注入後の時間 (分)	移動相 A (vol%)	移動相 B (vol%)
0 ~ (1.5)	1	99
(1.5) ~ 2.5	1	99
2.5 ~ 47.5	1 \rightarrow 10	99 \rightarrow 90

5社でイオヘキソールの類縁物質試験を行った結果、イオヘキソールのエキソ体及びエンド体の分離度と保持時間は5社で概ね一致した (Table 1)。不純物に関しては、5社で共通して検出された7つの不純物ピークに関して

Table 1. 試料溶液における分析結果の各パラメータ

		A社	B社	C社	D社	E社
イオヘキソール エンド体	保持時間(分)	20.25	19.11	19.71	20.14	19.52
	ピーク面積	5395458	5491	5262559	6036792	5528450
イオヘキソール エキソ体	保持時間(分)	21.65	20.65	21.15	21.53	20.87
	相対保持時間	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
	ピーク面積	20751888	19846	19179968	20998613	19657964
	分離度	2.87	3.08	2.99	2.78	2.88
不純物1	保持時間(分)	24.01	23.09	23.47	23.85	23.10
	相対保持時間	1.109	1.118	1.110	1.107	1.107
	ピーク面積	8042	9.2	7492	14646	5270
	含有率(%)	0.029	0.036	0.031	0.054	0.021
不純物2	保持時間(分)	24.85	23.84	24.21	24.63	23.82
	相対保持時間	1.148	1.154	1.145	1.144	1.141
	ピーク面積	2575	2.6	2541	4345	2423
	含有率(%)	0.010	0.011	0.010	0.016	0.010
不純物3	保持時間(分)	25.59	24.61	24.94	25.36	24.52
	相対保持時間	1.182	1.192	1.180	1.178	1.175
	ピーク面積	7587	5.9	7066	9868	5513
	含有率(%)	0.029	0.023	0.029	0.036	0.022
不純物4	保持時間(分)	26.31	25.33	25.65	N/A	N/A
	相対保持時間	1.215	1.227	1.213	N/A	N/A
	ピーク面積	5946	4.2	5955	N/A	N/A
	含有率(%)	0.023	0.017	0.024	N/A	N/A
不純物5	保持時間(分)	27.16	26.33	26.57	26.96	26.57
	相対保持時間	1.255	1.275	1.256	1.252	1.273
	ピーク面積	33392	29.2	29940	44456	18803
	含有率(%)	0.127	0.115	0.122	0.164	0.074
不純物6	保持時間(分)	28.00	27.13	27.34	27.78	26.82
	相対保持時間	1.293	1.314	1.293	1.290	1.285
	ピーク面積	34133	31.3	30404	36611	22324
	含有率(%)	0.130	0.123	0.124	0.135	0.085
不純物7	保持時間(分)	28.70	27.82	28.03	28.48	27.47
	相対保持時間	1.326	1.347	1.326	1.323	1.316
	ピーク面積	18565	17.4	17000	21104	11498
	含有率(%)	0.071	0.069	0.069	0.078	0.045
不純物8	保持時間(分)	32.58	31.93	32.01	32.38	31.24
	相対保持時間	1.505	1.546	1.514	1.504	1.497
	面積値	3835	4.0	2013	4157	2909
	含有率(%)	0.015	0.016	0.008	0.015	0.011

Table 2. 試料溶液中の不純物合計量

	A社	B社	C社	D社	E社
<i>o</i> -アルキル体のピークの面積の合計(%)	0.395	0.363	0.376	0.428	0.237
<i>o</i> -アルキル体以外のピークの面積の合計(%)	0.039	0.047	0.041	0.070	0.031

は、保持時間は概ね一致した。一方で、不純物の含有率については、A, B, C社では一致したが、D社とE社では差が見られた (Table 2)。イオヘキソールのエキソ体に対する相対保持時間 1.2 ~ 1.5 の *o*-アルキル体のピークの合計量は 0.6% 以下、*o*-アルキル体以外のピークはそれぞれ 0.1% 以下、合計量は 0.3% 以下であり 5社ともに純度試験の基準値内であった。一方で、5社で不純物合計量を比較すると、A, B, C社では概ね一致したが、D社とE社の間で 0.2% 程度の差が見られ、室間再現性は得られなかった。

まとめ

今回グラジエント法を用いてイオヘキソールの純度試験を検討した結果、グラジエント補正を行うことでイオヘキソール及び不純物ピークの保持時間を一致させることが出来た。また、不純物の含有率については、差が見られ室間再現性が得られなかったため、今後さらなる検討が必要と考えられる。