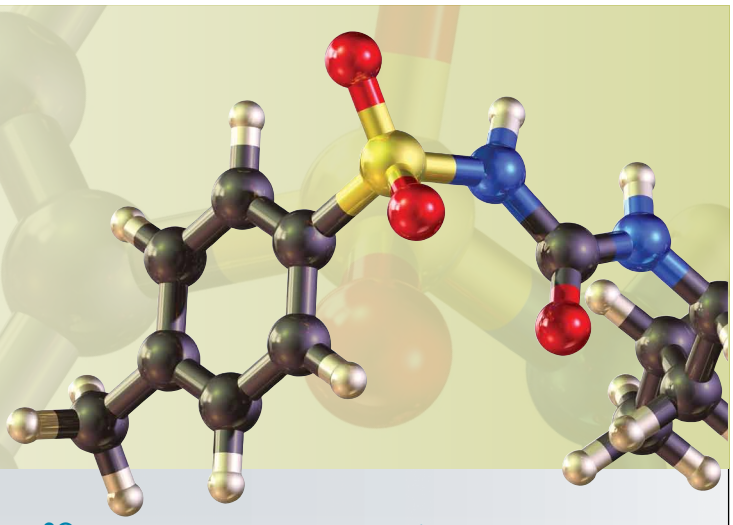
[TECHNOLOGY BRIEF]

ACQUITY UPC² システムを用いたトルブタミドのクロマトグラフィーアッセイ



新しい UPC²® 分析法が提供するデータは、現在の HPLC 分析法と同等以上の品質を提供しながら、10 倍の高速分析と溶媒使用量を削減しました。

目的

ACQUITY UPC²™ システムを用いて、原薬トルブタミド分析を現在の USP 法である順相 HPLC分析法から超臨界流体クロマトグラフィー分析法へ移管することに成功しました。

背景

超臨界流体クロマトグラフィー（SFC）は、主な移動相に CO_2 とメタノールのような極性溶媒を用いる順相分離技術です。SFC の原理は HPLC と同様で、1 分析にかかるコストと溶媒の使用量と廃棄量を削減し、環境への配慮をしながら、SFC 分析法に移管することが可能です。SFC ソリューションに分析法を移管するためには、データの質を維持し、現在の順相 HPLC 分析法と同等の結果を得る必要があります。現在の米国薬局方（USP）には、原薬トルブタミドの分析法として順相 HPLC 分析法が指示されています (benzenesulfonamide, CAS# 64-77-7) 。このアイソクラティック分離は、流速 1.5 mL/ 分、4.0 × 300 mm, シリカカラム (L3)、移動相としてヘキサン : 水飽和ヘキサン : THF : アルコール : 氷酢酸 =475:475:20:15:9、分析時間は 20 分で行います。公定法メソッドには実績と信頼性はありますが、ヘキサンや THF を含む複雑な比率の混合溶媒を移動相として使用しています。そして、多くの研究室では環境への配慮とコスト削減に取り組むことを望んでいます。

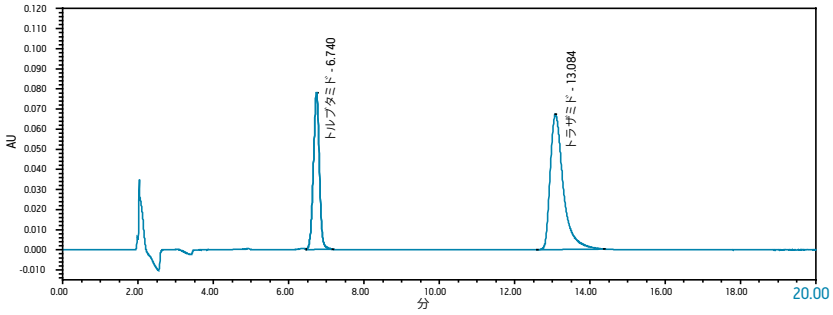


図1. トルブタミドとトラザミドの順相HPLC 分析

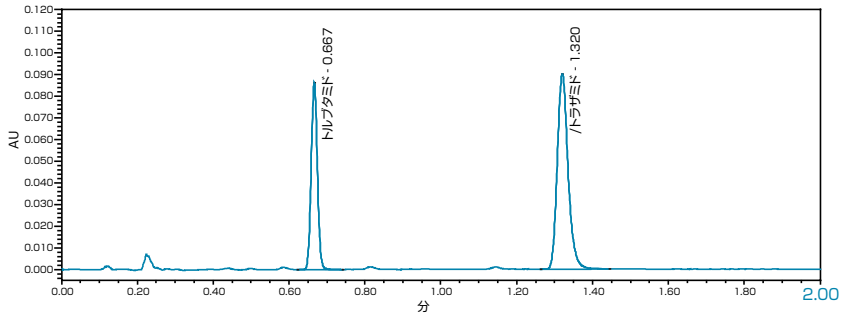


図2. トルブタミドとトラザミドのACQUITY UPC² 分析

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

ソリューション

サンプルを調整し、内部標準物質であるトラザミドとトルブタミドを現在の USP 法で分析を行いました。この分析結果と ACQUITY UPC^2 システムで開発した分析法による結果の比較を行いました。UPC^2 分析条件を以下に示しました。

カラム : ACQUITY UPC^2 BEH, 3.0 x 100 mm, 1.7 µm
温度 : 50 ℃
移動相 : 95% CO_2: 5% メタノール / イソプロパノール (1:1) 0.2% TFA
流速 : 2.5 mL/min
出口圧力 : 120 Bar/1740 psi
検出器 : UV /PDA 254 nm

図 1 に示すように現在の順相 HPLC 分析法においても許容範囲内のクロマトグラムを示しているものの、内部標準のピークテーリングが顕著に見受けられました。(テーリング係数 1.65) しかし、適合性評価基準に合格した分析法であった為、さらなる改善はなされませんでした (繰り返し注入の標準偏差は 2.0% 以下、トルブタミドとトラザミドのピーク間の分離度 (R) は 2.0 以下)。新たに開発した UPC^2 分析法による結果は、USP 適合値を満たし (トルブタミドとトラザミドの各保持時間の RSD は 1.2%RSD と 0.9%RSD。両化合物の面積は 0.9%RSD 以下、n=6)、2 化合物間で同様の分離度 (R= ～ 15) を保ちながら、分析時間の高速化 (分析時間 2 分) を図りました。内部標準物質のトラザミドのテーリングは、大幅に改善され (テーリング係数 1.2)、興味深いことに UPC^2 を用いていくつかの小さなピークが検出されたことは、この技術が高い分離効率であることを示しています。今回の分析例における順相 HPLC 分析法で使用した溶媒量は、ヘキサン 29 mL、THF とエタノールを各 1 mL でした。一方の UPC^2 分析法で使用した溶媒量は、メタノールとイソプロパノールを各 0.25 mL でした。このことからも順相 HPLC から UPC^2 へのメソッド移管により、有機溶媒の使用量を大幅に削減できることを証明しました。1 分析あたり順相 HPLC では $1.4 に対して、UPC^2 では $0.01 となり、従来の順相 HPLC から UPC^2 にメソッド移管することで大幅なコスト削減を達成することができました。

まとめ

ACQUITY UPC^2 システムを用いて、USP 法である HPLC 分析法を UPC^2 分析法への移管に成功しました。UPC^2 が提供する新しい分析法は、現在の HPLC 分析法と同等以上のデータ品質を保持しながら、10 倍高速かつ溶媒の使用量を削減しました。質の高い結果がより迅速に得られることで、研究室の生産性を向上させながら、1 サンプルにかかる分析コストが削減できます。ACQUITY UPC^2 システムは、健康面、安全面、コスト面や環境面へ配慮しながら、より効率的かつ効果的に現在の順相 HPLC からの移管を検討している研究室にとって理想的なソリューションです。

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

日本ウォーターズ株式会社 www.waters.com
東京本社 〒140-0001 東京都品川区北品川1-3-12第 5 小池ビル TEL 03-3471-7191 FAX 03-3471-7118
大阪支社 〒532-0011 大阪市淀川区西中島5-14-10 サムティ新大阪フロントビル11F TEL 06-6304-8888 FAX 06-6300-1734
ショールーム 東京 大阪
テクニカルセンター 東京 大阪 名古屋 福岡 札幌

Waters、UPC^2 および The Science of Wha's Possible は Waters Corporation の登録商標です。
ACQUITY UPC^2、UltraPerformance Convergence Chromatography は Waters Corporation の商標です。
その他すべての登録商標はそれぞれの所有者に帰属します。

©2013 Waters Corporation. Printed in Japan. 2013年9月 720004247JA PDF