Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

CORTECS 2.7 µm カラムを用いたオメプラゾールの強制分解試験

Kenneth D. Berthelette, Thomas Swann, and Kenneth J. Fountain
Waters Corporation, Milford, MA, USA

アプリケーションのメリット

- CORTECS® C_{18}+ カラムは低pH、低イオン強度pH モディファイヤー（ギ酸など）を用いた移動相条件下で塩基性化合物に卓越したピーク形状を提供
- CORTECS 2.7 µm 4.6 × 150 mm カラムでは HPLC システムの耐圧範囲内の背圧で複雑な混合物の高分離が得られるため、構造上類似した化合物の分離が可能に
- UV 検出と ACQUITY® QDa® 検出器を組み合わせることで、容易なピーク同定に向け簡単かつ信頼性の高い MS 情報を提供

ウォーターズのソリューション

CORTECS C_{18}+ カラム

Alliance® HPLC システム

Empower® 3 CDS

LCMS 品質証明マキシマムリカバリーバイアル

ACQUITY QDa 検出器

キーワード

Alliance HPLC、CORTECS C_{18}+、
オメプラゾール、ACQUITY QDa 検出器、
強制分解

はじめに

医薬品製造において化学的安定性試験は重要で、経口投与される医薬品の場合に特に当てはまります。消化プロセスは医薬品有効成分（API）を変化させ、有害な恐れのある副生成物を生じる可能性があります。開発工程において、これら副生成物を検出し特性解析を行うことが重要です。有害な恐れのある副生成物の特性解析を行うためには、分解生成物および主要化合物を全て分離する必要があります。CORTECS 2.7 µm カラムは複雑なサンプルの分析において、卓越したピーク形状と分離能を提供します。2.7 µm のソリッドコアパーティクルを充填したカラムでは、全多孔性パーティクルカラムと比べて高い分離能を低い背圧で得られます。従来、HPLC システムにおいては粒子径 3 µm 以下で 150 mm のカラムの使用は、その背圧により制限されていました。しかしながら、CORTECS 2.7 µm カラムでは HPLC システムで 150 mm のカラムを使用でき、システムの耐圧範囲内（< 5,000 psi）で稼働しながら高い分離能を実現できます。オメプラゾールの強制分解を例として示し、UV および MS 検出器両方を備えた Alliance HPLC システムで CORTECS C_{18}+ 2.7 µm、150 mm カラムを用いて分析しました。

オメプラゾールは塩基性の化合物で、胃酸の逆流および胸焼けの治療に使用されるプロトンポンプ阻害薬です。この API は低 pH で不安定で [1]、副生成物の同定および特性解析のためには、酸性条件下での強制分解が必要です。CORTECS 2.7 µm カラムは強制分解サンプルのような複雑な混合物におけるピーク間の高分離を可能にします。Waters® ACQUITY QDa 検出器を用いることで、質量によりピークを迅速に同定することができます。装置の取扱いの容易さから、ACQUITY QDa は最小限のトレーニングで効率的に使用し、迅速かつ信頼性高い質量データを得ることができます。従来の質量分析計とは異なり、ACQUITY QDa 検出器は定期的なチューニングやキャリブレーションが必要ありません。このため、経験の浅い分析者でも容易に使用可能です。最新パーティクルテクノロジーと検出技術を用いることで、複雑な混合物を迅速かつ信頼性高く分離し、ピークの質量データを容易に得られます。これにより分析法開発において迅速な決定が可能になり、トータルの開発時間を削減できる可能性があります。

実験方法

LC条件

システム： Alliance HPLC

カラム： CORTECS C_{18}+、
2.7 µm, 4.6 × 150 mm
（製品番号 186007408）

移動相 A： 0.1% ギ酸水溶液

移動相 B： 0.1% ギ酸アセトニトリル溶液

グラジエント： 10%B - 78%B ; 0-16.5 min、
78%B – 10%B ; 16.5-16.6 min、
10%B ; 16.6 – 20.0 min

流速： 1.2 mL/min

カラム温度： 30 ℃

検出（UV）： 280 nm

QDa 設定： ESI+ フルスキャン *m/z* 120-240

QDa コーン電圧：15 V

QDa キャピラリー電圧： 0.8 kV

注入量： 9.6 µL

データ管理： Empower 3 CDS

サンプル調製

2 つのオメプラゾール錠剤（オメプラゾール 20 mg）を別々に乳鉢と乳棒で粉砕し、それぞれ 100 mL のメスフラスコに移しました。一方のフラスコ（A）には 0.1N HCl 25 mL を添加して溶液を室温で 1.5 時間放置した後、メタノールを添加して 100 mL としました。もう一方（B）には 50：50 メタノール：水を添加して 100 mL に希釈しました。どちらの溶液も 0.2 µm のフィルターでろ過し、溶液 A を 0.66 mL、溶液 B を 0.34 mL 合わせたものを LCMS 品質証明マキシマムリカバリーバイアル（製品番号：600000749CV）に入れてサンプルとしました。

結果および考察

2998 PDA 検出器および ACQUITY QDa 検出器を備えた Alliance e2695 システムを用いて分析を行いました。オメプラゾールでは、文献検索や USP スタンダードの参照から少なくとも 8 種類の強制分解物が知られています[2,3,4]。表 1 には強制分解物とその質量を記載しました。この分離では 2 組のアイソバリックの化合物がみられました。類縁物質 F と G は同じ質量（312.36 *m/z*）、Omeprazole-n-Oxide と Omeprazole Sulphone も同じ質量（362.42）です。図 1 は CORTECS C_{18}+、2.7 µm, 4.6 ×150 mm での酸強制分解サンプルの分離を示しました。

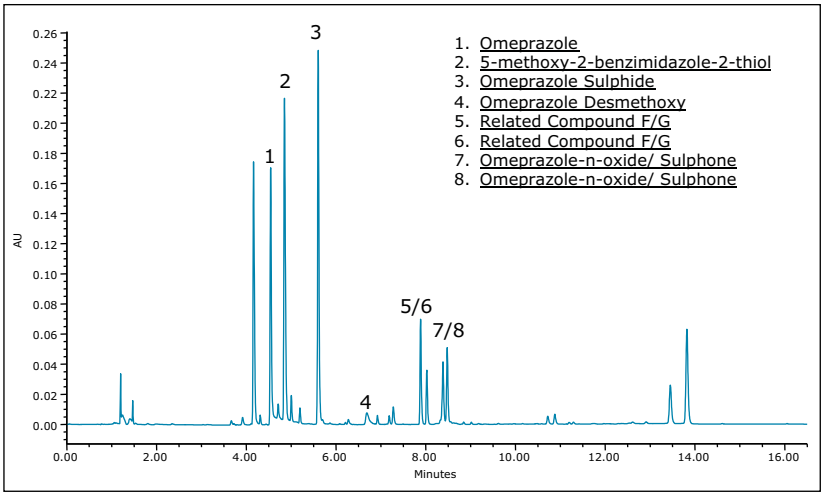

図 1. オメプラゾール錠剤強制分解サンプルの分離

前記クロマトグラムから分かるように、溶出した全てのピークはシャープで、十分に分離しました。CORTECS 2.7 µm カラムの背圧は同じ粒子径の全多孔性カラムに比べて低いため、最大の分離に向けて 150 mm のカラムを使用することができ、これはこの分離において 2 組のアイソバリックピークの分離に重要です。さらに、ACQUITY QDa MS 検出器により UV ピークと表 1 記載の化合物を照合でき、アイソバリックペア 5/6 および 7/8 がユニットマス分解能により区別できない場合にも、これら化合物のスタンダードを注入することで溶出順序を確認できます。

表 1. オメプラゾールの既知強制分解物および構造類縁物質と各化合物の質量

ピークID	化合物	質量 (M+H)
1	Omeprazole	346.4
2	5-methoxy-2-benzimidazole-2-thiol	181.2
3	Omeprazole Sulphide	330.4
4	Omeprazole Desmethoxy	316.4
5/6	Omeprazole Related Compound F/G	312.4
7/8	Omeprazole Sulphone	362.4
7/8	Omeprazole-n-oxide	362.4

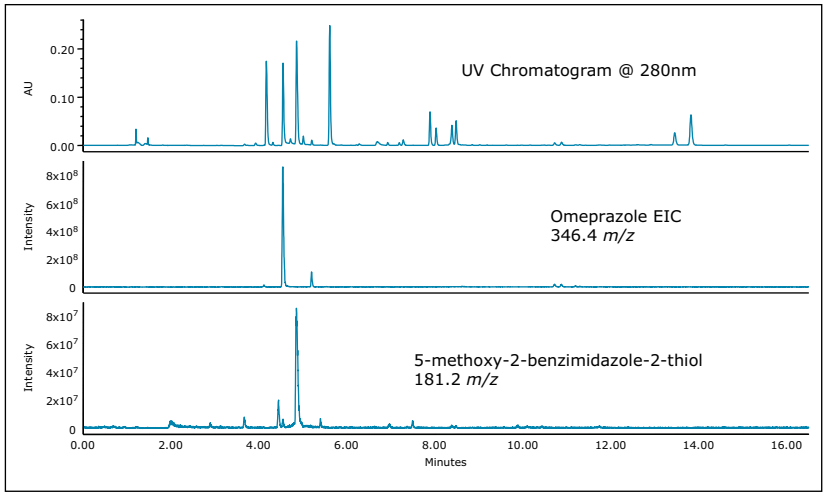

図 2. Omeprazole (346.4 m/z) および 5-methoxy-2-benzimidazole-2-thiol (181.2 m/z) に関して確実に同定できることを示す抽出イオンクロマトグラム

抽出イオンクロマトグラムはピーク同定を確認するために用いました。図 2 は例として Omeprazole および 5-methoxy-2-benzimidazole-2-thiol の抽出イオンクロマトグラムを示しています。ACQUITY QDa 検出器は任意ピークの積算マススペクトルの算出にも用いることができます。図 3 は Omeprazole および Omeprazole Sulphide の積算スペクトルを示しています。積算スペクトルの分析は、ピーク同定についての確認や、さらなる化合物の共溶出の検出に用いられます。

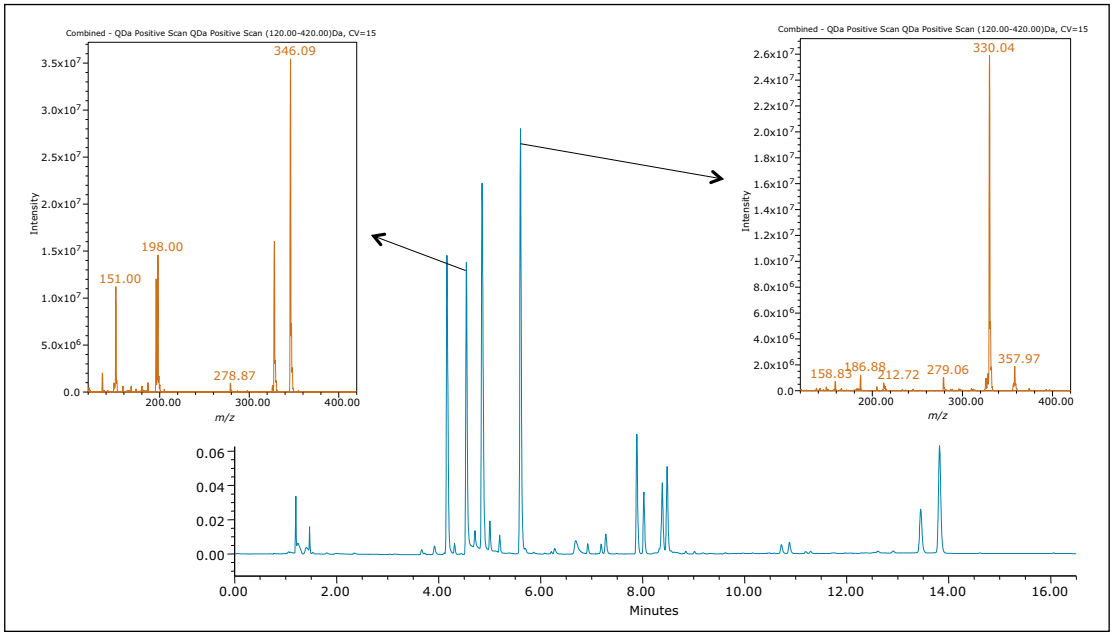

図 3. Opmeprazole（346.09 m/z）および Omeprazole Sulphide（330.04 m/z）溶出に際し存在する全ての質量の積算スペクトル

CORTECS 2.7 µm、150 mm カラムで得られる高分離および ACQUITY QDa 検出器で得られる質量データにより、存在する強制分析物が同定できました。CORTECS 2.7 µm カラムを用いることで強制分解サンプル中の 8 つの化合物の分離が可能となりました。このカラムの高いカラム効率と低背圧により、HPLC システムで最大限の分離が可能となります。

結論

PDA および QDa 検出器両方を備えた Alliance HPLC システムで CORTECS C_{18}+, 2.7 µm, 4.6 ×150 mm を用いてオメプラゾールの強制分解試験を行いました。このカラムは、アイソバリックな強制分解物の 2 組の重要なピークペアについて示したように高分離であると同時に、従来からの HPLC で対応可能な背圧（< 5000 psi）で使用できます。CORTECS C_{18}+ を使用することで、オメプラゾール（弱塩基）とその強制分解物について、低 pH で低イオン強度の pH モディファイヤー（ギ酸など）を使用した場合にも、シャープで左右対称なピークが得られました。CORTECS 2.7µm カラムに PDA だけでなく QDa 検出器を用いて MS 検出を組み合わせることで、複雑なサンプル混合物中に近接して溶出する化合物の迅速な分離と同定が可能になります。HPLC システムで、長さ 150 mm の CORTECS 2.7 µm カラムは装置の耐圧を超えることなく適した流速で使用できるため、HPLC における分離向上の可能性を最大限に引き出せます。

参考文献

1. Bozdag, S.; Calis, S.; Sumnu, M. Formulation and stability evaluation of enteric-coated Omeprazole formulations. *S.T.P. Pharma Sciences* 1999, 9, 321–327.
2. Seshadri, R.K.; Raghavaraju, T.V., Chakravarthy, I.E. A Single Gradient Stability-Indicating Reversed-Phase LC Method for the Estimation of Impurities in Omeprazole and Domperidone Capsules. *Scientia Pharmaceutica* 2012, 437–458.
3. Rajab, A; Touma, M.; Rudler, H.; Afonso, C.; Seuleman, M. Slow, spontaneous degradation of lansoprazole, omeprazole and pantoprazole tablets: isolation and structural characterization of the toxic antioxidants 3H-benzimidazole-2-thiones. *Pharmazie* 2013, 749–754.
4. Search Results USP Reference Standards, http://store.usp.org/OA_HTML/usp_ibeCSrdSrchResults.jsp?kw=Omeprazole.

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、CORTECS、Alliance、ACQUITY、Empower、QDa および The Science of What's Possible は Waters Corporation の登録商標です。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。

©2014 Waters Corporation. Printed in Japan. 2014年9月 720005103JA PDF