[TECHNOLOGY BRIEF]

CORTECS Phenyl 2.7 µmカラムを用いた硝酸ミコナゾールクリームUSP分析法の最新化

Bonnie A. Alden and Jacob N. Fairchild
Waters Corporation, Milford, MA, USA

目的

よりカラムサイズの小さい、高効率ソリッドコア CORTECS® Phenyl 2.7 µm カラムを用いて、よりカラムサイズの大きい 5 µm HPLC カラムを用いた分析法を最新化できること実証するため。これらカラムにより、同様の選択性と分離向上を達成し、USP モノグラフで規定された基準に適合。

背景

従来の HPLC システムに向けて開発された USP 分析法は、通常、比較的粒子径の大きい全多孔性のパーティクルを充填したカラムが使用されています。高性能 ACQUITY UPLC® システムや、最新のより効率の高い HPLC カラムの使用などを含む、これら分析法の再バリデーションは、費用と時間がかかります。しかしながら、アイソクラティック USP 分析法は、L/dp（粒子径に対するカラム長さの比）もしくはカラム効率が -25% から＋ 50% の範囲であれば粒子径を変更してもよいという、USP General Chapter‹621› の最近の変更に従って、最新化が可能です。本テクノロジーブリーフでは、CORTECS Phenyl 2.7 µm カラムを用いて最新化した硝酸ミコナゾールクリームの分析について説明します。USP ‹621› で許可された調整の範囲内でカラムサイズと粒子径を低減することで最新化を達成しました。

古い USP 分析法は、一般的に粒子径の大きな全多孔性パーティクルを充填した長い HPLC カラムを用いています。USP 分析法の最新化は、カラムサイズと粒子径の両方を低減することで達成できます。ソリッドコアパーティクルを充填したカラムは、単位長さ辺りでより高いカラム効率を提供し、同じ粒子径の全多孔性パーティクルに対して際立った優位性が見られます。

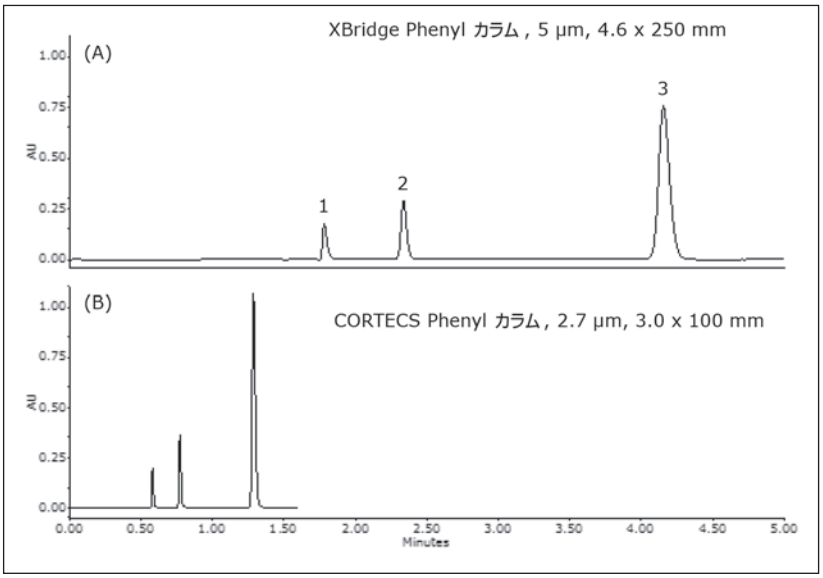

図 1. XBridge® Phenyl カラム (A) および CORTECS Phenyl カラム (B) でのミコナゾール (3)、安定香酸 (2)、ミコナゾール類縁物質 (1) の分離

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.®

ソリューション

CORTECS Phenyl カラム、2.7 µm、3.0 × 100 mm（製品番号 186008331）を、抗菌性保存剤である、硝酸ミコナゾールと安息香酸の分離に対して推奨されたカラム分類（L11）、カラムサイズ、粒子径である XBridge® Phenyl カラム、5 µm、4.6 × 250 mm（製品番号 1860003353）と比較しました。

USP モノグラフに記載された通り、メタノール / アセトニトリル / テトラヒドロフラン /1% トリエチルアミン、pH2.5（25/20/15/40、v/v）の 4 液の移動相システムを用いて分離が得られました。

硝酸ミコナゾール 0.28 mg/mL と安息香酸 0.02 mg/mL を含むスタンダード溶液は移動相で調製しました。硝酸ミコナゾール 0.28 mg/mL と安息香酸 0.02 mg/mL を含むサンプル溶液は、投与量当たり 100 mg の硝酸ミコナゾールを含む OTC（市販薬）のクリーム製剤 1 アプリケーターを、移動相 357 mL 中に分散させて調製しました。この溶液を超音波浴中で 40 - 45℃で 1 時間加熱し、室温に冷ましました。20 mL を 0.45 µL Teflon® フィルターでろ過し、2 mL を TruView LCMS 品質証明透明ガラスバイアル（製品番号 186005666CV）に移して分析に供しました。

適合性の測定はスタンダード溶液を用いて、HPLC システムについては XBridge Phenyl カラム、5 µm、4.6 × 250 mm（製品番号 186003353）で、UPLC システムについては CORTECS Phenyl カラム、2.7 µm、3.0 × 100 mm（製品番号 186008331）で行いました。どちらのカラムのクロマトグラフィー条件も、表 1 に示した通りです。

高効率の CORTECS Phenyl カラムにより、サイズの小さいカラムの使用が可能となり、再バリデーションの必要無しに分析時間を 1/3 に低減できました。カラムサイズの変更はシステム適合性の結果に影響しませんでした（表 2）。

USP 収載法に従うと、クリーム製剤中の硝酸ミコナゾールの公称値は 0.28 mg/mL です。今回のサンプル溶液は各カラムに対し、表 1 記載の容量を 5 回注入しました。クリーム中で表示量の硝酸ミコナゾールの比率は以下の式を用いて計算しました。

$$\text{Result} = \left(\frac{r_u}{r_s}\right) \text{x} \left(\frac{C_s}{C_u}\right) \text{x } 100$$

r_u = サンプル溶液のピークレスポンス（面積）
r_s = スタンダード溶液のピークレスポンス（面積）
C_s = スタンダード溶液中の硝酸ミコナゾール濃度
C_u = サンプル溶液中の硝酸ミコナゾール公称濃度

表示量の判定基準は、記載量の 90.0 -110.0 %です。XBridge Phenyl カラム、5 µm、4.6 × 250 mm での結果は 96.3%、CORTECS Phenyl カラム、2.7 µm、3.0 × 100 mm での結果は 94.9%でした。より効率の高い CORTECS Phenyl 2.7 µm カラムにおける硝酸ミコナゾールのピーク高さは、XBridge Phenyl 5 µm カラムよりも 35%高い値でした。図 1 に各カラムでの調製した硝酸ミコナゾールの分離を示しました。

	XBridge Phenyl 5 µm	CORTECS Phenyl 2.7 µm
I.D. x L:	4.6 x 250 mm	3.0 x 100 mm
dp, µm:	5	2.7
LC システム:	Alliance® e2695	ACQUITY UPLC
検出:	2489 UV/Vis Detector 225 nm	ACQUITY PDA 225 nm
移動相:	methanol/acetonitrile/tetrahydrofuran/ 1% triethylamine, pH 2.5 with H3PO4 (25/20/15/40, v/v)	
流速:	1.5 mL/min	0.64 mL/min
カラム温度:	45 °C	
注入量:	10 µL	1.7 µL

表 1. ミコナゾールおよび安息香酸の分離に用いたクロマトグラフィー条件

		XBridge Phenyl	CORTECS Phenyl
分離度（半値幅）	硝酸ミコナゾールと安息香酸の分離度が13以上	17.4	15.5
カラム効率（半値幅）	硝酸ミコナゾールのピークの理論段数が7,500段以上	14,147	15,175
テーリングファクター（USP）	硝酸ミコナゾールピークについて2.0未満	1.2	1.4
相対標準偏差、tR	硝酸ミコナゾールピークについて2.0%未満	2.0	0.04

表 2. スタンダード溶液のシステム適合性要件

まとめ

CORTECS Phenyl カラムは、XBridge Phenyl カラムなどの USP L11 で指定された他のカラムと同様の選択性を提供し、USP 収載法の最新化が可能となります。USP General Chapter ‹621› に規定されたカラム長さと粒子径の許可された調整範囲を活用することで、記載された硝酸ミコナゾールの分析法を、35%高い感度で 3 倍速く実施できます。高性能 ACQUITY UPLC システムと高効率 CORTECS Phenyl 2.7 µm カラムを組み合わせることで、硝酸ミコナゾールクリームモノグラフの USP 分析法の要件を満たす迅速分析を容易に達成できました。

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 新大阪トヨタビル11F TEL 06-6304-8888 FAX 06-6300-1734
ショールーム 東京 大阪
サービス拠点 東京 大阪 札幌 福島 静岡 富山 名古屋 徳島 福岡

Waters、Alliance、CORTECS、ACQUITY UPLC、XBridge、UPLC 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。

©2016 Waters Corporation. Produced in Japan. 2016年5月 720005622JA PDF