Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

ファモチジン錠のHPLCからUPLCへのJP分析法移管

アプリケーションの利点

- UPLC® システムによる、注入回数2000回以上のルーチン製剤分析の実現
- 分析スループットの向上と使用溶媒量の削減
- 分析効率の向上

ウォーターズのソリューション

ACQUITY UPLC® システム

ACQUITY UPLC CSH™ C_{18} カラム

Alliance® HPLC システム

XSelect™ CSH C_{18} カラム

XSelect CSH C_{18} ***XP*** カラム

ACQUITY UPLC カラムカリキュレーター

キーワード

分析法移管、ファモチジン錠剤、
ハイスループット分析、品質管理、
分析コスト削減、ルーチン分析、製剤分析

はじめに

ファモチジンはヒスタミンH2受容体拮抗薬の1つであり、胃酸の分泌を抑え胃炎や胃腫瘍の治療に用いられています。1983年よりガスターの名称で錠剤型が山之内製薬株式会社（現アステラス製薬株式会社）より販売され、広く国内で流通しています。また、2001年に製造特許が満了し、2002年よりジェネリック医薬品も流通しています。

医薬品の分析は日本薬局方（JP）に規定された試験法を基に実施されています。ファモチジンは、1993年に内用薬が、1999年には注射剤がJPに指定されています。本アプリケーションノートでは、UPLCシステムを用いてファモチジンのJP分析法をスループットの向上をもたらす粒子径2.5 µmのカラムと、更に究極のスループットを実現する粒子径1.7 µmのカラムを用いた分析法へ移管した例をご紹介します。また、粒子径1.7 µmのカラムでは、品質管理ラボにおける分析法の実現性の点からルーチン使用（連続2000回以上の実サンプルの注入）検証もあわせて実施しました。

実験方法

Alliance 2695 HPLC 条件

緩衝液：　10mM 1-ヘプタスルホン酸ナトリウム水溶液（酢酸でpH=3に調整）

移動相：　1000：240：40 緩衝液/アセトニトリル/メタノール

分離モード：アイソクラティック

検出：　UV 254 nm

カラム：　XSelect C_{18}、4.6×150 mm、5 µm（製品番号 186005290）

ニードル洗浄溶媒：0.1%酢酸含有メタノール

カラム温度：25 ℃

流速：　0.9 mL/min

注入量：　5 µL

ACQUITY UPLC H-Class 条件 - その1

緩衝液：　10mM 1-ヘプタスルホン酸ナトリウム水溶液（酢酸でpH=3に調整）

移動相：　1000：40：40 緩衝液/アセトニトリル/メタノール

分離モード：アイソクラティック

検出：　UV 254 nm

カラム：　XSelect CSH C_{18} ***XP***、2.5 µm 2.1×75 mm（製品番号 186006102）

ニードル洗浄溶媒：0.1%酢酸含有メタノール

カラム温度：25 ℃

流速：　0.38 mL/min

注入量：　0.5 µL

結果および考察

サンプルはJP記載のファモチジン錠定量法に従って調製しました。[1] 市販のファモチジン錠10 mg 20錠を粉末とし、水50 mLを加えて攪拌しました。次にメタノール100 mLを加え更に攪拌した後、メタノールを加えて200 mLとしました。4000 rpmで15分間遠心分離し、その上清5 mLに内部標準溶液、移動相を加えて50 mLとし、試料溶液としました。サンプル溶液中のファモチジン濃度は0.1 mg/mL、内部標準物質（パラオキシ安息香酸メチル）は0.02 mg/mLです。スタンダードも同様にJP法に従って調製しました。

ファモチジン錠定量法では、内径4.6 mm、長さ15 cm、粒子径5 µmのオクタデシルシリル化シリカゲルカラムが指定されています。ファモチジンは塩基性の化合物であり、pKaは7.06です。この物性を考慮し、酸性低イオン強度移動相条件下で塩基性化合物の良好なピーク形状とローディングキャパシティを特長とするCSH C_{18}カラムを用いることにしました。CSHカラムはHPLC粒子径からUPLC粒子径まで幅広くラインアップし、システムおよびカラム間でのシームレスな分析法移管が可能です。

まず、JP法を用いてAlliance HPLCシステムでファモチジンのスタンダードとファモチジン錠サンプルを6回連続注入しました。クロマトグラムを図1に、システム適合性結果を表1に示します。JP法記載の定量法システム適合性に両サンプルとも適合しました。次にスループットの向上と使用溶媒/廃棄溶媒の削減を目的として、ACQUITY UPLCカラムカリキュレーターを用いて5 µm粒子径のカラムから2.5 µmおよび1.7 µmのカラムに分析法を移管しました。[2] このカリキュレーターはカラムの粒子径、カラム長さと内径を基に自動で分析条件が算出されます（図2）。その結果を用いてACQUITY UPLC H-Classシステムで、XSelect CSH C_{18} ***XP***、2.1×75 mm 2.5 µm カラムおよび2.1×50 mm ACQUITY UPLCカラム（1.7 µm）を用いてファモチジンスタンダードとサンプルを同様に分析し、両カラムにおいて保持時間以外のシステム適合性に適合していることを確認しました（表1）。各クロマトグラムを図1に示します。粒子径を5 µmからより小さい粒子径に変更することによって、システム性能および再現性を維持したまま、2.5 µmのカラムでは73%の分析時間短縮と88%の溶媒使用量の削減を、1.7 µmのカラムでは86%の分析時間短縮と92%の溶媒使用量の削減を実現しました。

ファモチジンスタンダード

		HPLC	UPLC	
JP要件		5 µm	***XP***（2.5 µm）	UPLC（1.7 µm）
保持時間（分）	約6分	6.2	1.6	0.7
分離度	≧1	21.3	21.2	17.0
相対標準偏差（面積）	≦1.0%	0.14	0.33	0.39

表1　HPLC および UPLC のシステム適合性結果（スタンダードの6回繰り返し測定）

ACQUITY UPLC H-Class 条件 - その 2

緩衝液： 10mM 1-ヘプタスルホン酸ナトリウム水溶液（酢酸でpH=3に調整）

移動相： 1000：240：40 緩衝液/アセトニトリル/メタノール

分離モード： アイソクラティック

検出： UV 254 nm

カラム： ACQUITY UPLC CSH C_{18} 2.1 x 50 mm 1.7 µm（製品番号 186005296）

ニードル洗浄溶媒：0.1%酢酸含有メタノール

カラム温度： 30 ℃

流速： 0.55 mL/min

注入量： 0.3 µL

データ管理

Empower® 3

JP システム適合性要件

システムの性能：
ファモチジン、内部標準物質の順に溶出
分離度11以上

システムの再現性：
内部標準物質のピーク面積に対するファモチジンのピーク面積の比の相対標準偏差が1.0%以下

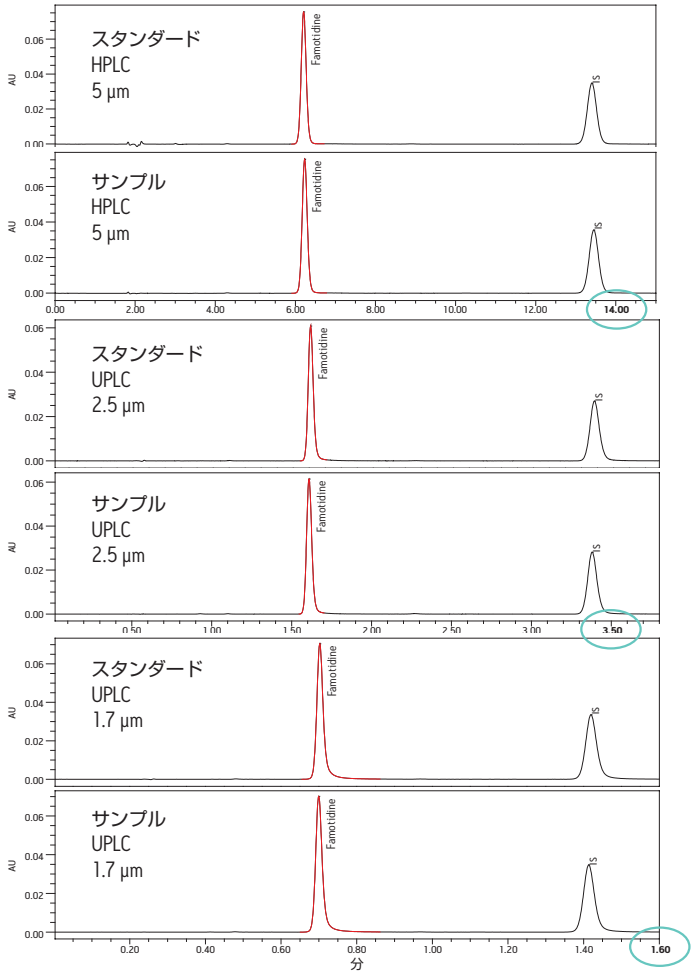

図1　ファモチジンスタンダードおよびサンプルのクロマトグラム

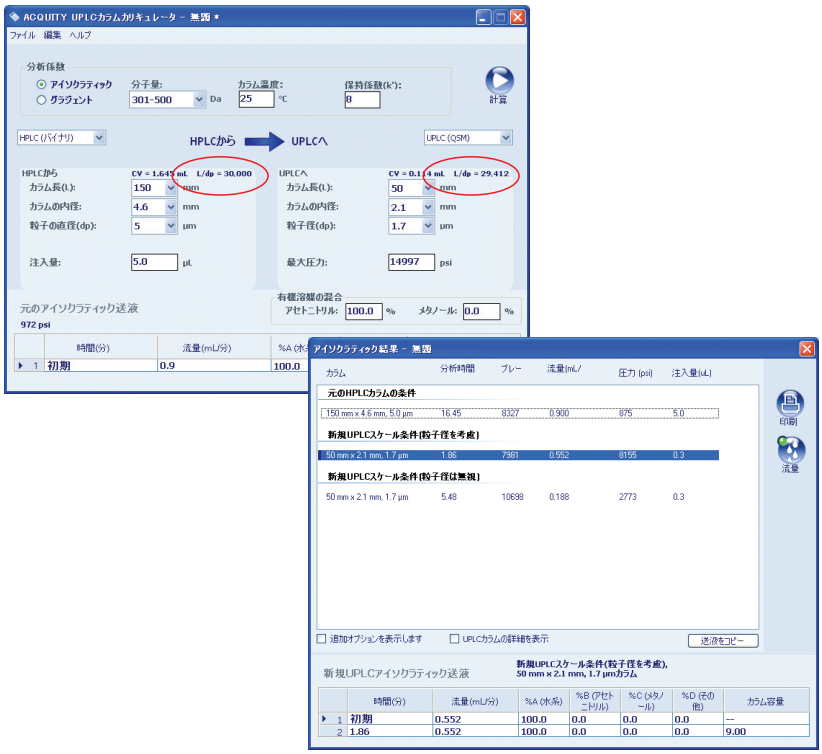

図2　ACQUITY UPLC カラムカリキュレーターを用いた HPLC から UPLC への分析法移管

ルーチン使用検証

UPLCシステムとUPLCカラムを用いた分析法の頑健性を確認するためルーチン使用検証を実施しました。ブランク（移動相溶媒）1回-スタンダード3回-サンプル20回注入を1つのサンプルセットとしました。またシステム適合性を確認するためルーチン分析の間に定期的にスタンダードの6回注入を実施しました。このサンプルセットを繰り返し分析し、2000回注入を実施しました。また併せてシステム圧のモニターも実施しました。その結果2000回注入後でも保持時間以外のJPのシステム適合性要件に適合しており（表2）、システム圧も若干の上昇は見られましたが分析を通して安定していました（図3）。

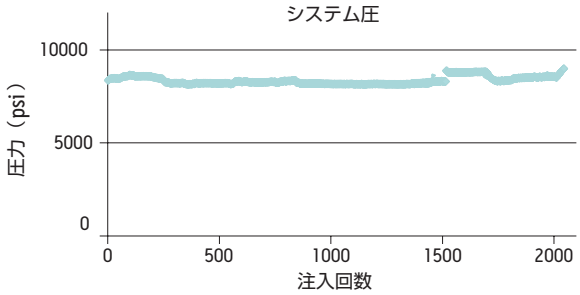

図3　ルーチン分析時のシステム圧モニター

		ルーチン使用検証	
JP要件		注入開始	2000回注入時
保持時間（分）	約8分	0.70	0.75
分離度	≧11	17.9	14.6
相対標準偏差（面積）	≦1.0%	0.42	0.38

表2　ファモチジンルーチン分析検証時のシステム適合性試験結果（スタンダード6回繰り返し測定）

結論

ACQUITY UPLCカラムカリキュレーターを用い、ファモチジン錠のJP定量法を粒子径5 µmの分析法から、2.5 µm、1.7 µmの分析法へと問題なく移管することができました。 2.5 µmカラムでは73%の分析時間短縮と88%の溶媒使用量の削減を実現し、分析システムの効率化と1分析当たりのコストの削減が可能です。また1.7 µmを用いることで、更に分析時間の短縮（86%）と使用溶媒量削減（92%）が可能であり、究極のシステム効率化とコスト削減を実現します。 また、Empower 3 を用いてシステム圧を経時的にモニターし、各データの管理、解析することで製剤試験の効率化およびシステムの稼動状況の視覚化を図ることができます。UPLCカラムを用いたルーチン分析では、2000回以上の注入後もJPファモチジン錠定量法に規定されているシステム適合性要件に適合しており、ルーチンQC分析における分析法の頑健性も実証することができました。ウォーターズのトータルソリューションである最新技術を用いた分析システム、幅広いカラムケミストリーラインアップ、データ管理ソフトウェア、そして分析法移管ツールを活用することで、簡便且つシームレスにJP法記載の分析法をラボの状況に合わせて 2.5 µmもしくは 1.7 µmに移管し、システムの効率化、コスト削減を図ることが可能です。

参考文献

1. 第十六改正に日本薬局方　ファモチジン錠（平成23年3月24日　厚生労働省告示第65号）

2. Jones M.D., Alden P., Fountain K.J., Aubin A. Implementation of Methods Translation between Liquid Chromatography Instrumentation, Waters Application Note [2010], Part Number 720003721EN.

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、UPLC、ACQUITY UPLC、Alliance および Empower は Waters Corporation の登録商標です。
CSH、XBridge および The Science of What's Possible 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1月 MKT12177　PDF