

米国薬局方許容範囲内での ナプロキセンナトリウム錠剤の 分析メソッドの検討

著者

William J. Long
Agilent Technologies, Inc.

概要

ナプロキセンの USP メソッドを、Agilent ZORBAX RR Eclipse Plus C8 および InfinityLab Poroshell 120 EC-C8 カラムを使用して実施した結果を示します。InfinityLab Poroshell 120 EC-C8 カラム (4.6×75 mm および 4.6×50 mm、2.7 μm) と ZORBAX RR Eclipse Plus C8 カラム (4.6×100 および 4.6×75 mm、3.5 μm) を使用した場合、分析時間は InfinityLab Poroshell 120 EC-C8、4.6×50 mm カラムを使用する再検証の必要なしに、元のメソッド時間の 22% に削減されます。

はじめに

製薬会社は、原材料と最終製品の試験に米国薬局方 (USP) の公定書メソッドを日常的に採用しています。USP メソッドを正しく実装し、機器間でメソッド移管ができれば、ルーチン分析のスループットを向上させるための重要なステップとなります。メソッド移管を効果的に行えば、実験室・機器・特定のメソッドのリソースに関係なく、同じ分析で同じ結果が得られます。ラボ間のメソッド移管を確実に行えれば、別の場所、または受託研究機関や製造組織 (CRO や CMO) などのパートナーとの間で、メソッドの再現性が実現できます。クロマトグラフィー分離は製品品質に関する決定の基礎となります。HPLC ベースの USP メソッドを UHPLC 技術に移管すれば、分析時間を短縮し、信頼性の高い高品質のクロマトグラフィー分離が保証されます。その結果、こういった機関や組織は生産性の目標を達成できます。UHPLC 技術は、スループット向上、品質向上、コスト削減という点で、QC と製造施設に大きな利点をもたらします。

医薬品試験に関連するコストは、USP 621 の総則で許可されているクロマトグラフィーの調整を行うことで削減できます。ここでのコストは、クロマトグラフィー溶媒および時間として定量化できます。これら 2 つの考慮事項のうち、時間がより重要です。

ナプロキセン不純物およびナプロキセン錠剤の分析メソッドは、USP の標準が追加改訂された際に更新されました。さらに、アッセイ法と不純物法が同じカラムで実施できるようになりました。本アプリケーションノートでは、USP で公開されているメソッドを許容範囲内で調整し、表面多孔性粒子カラムを使用したサンプルのスループット向上について紹介します。

医薬品試験に関わるコストは高額です。ラボで LC 機器を使用する場合、多くのラボマネージャは溶媒の使用を減らして生産性を向上させることで、コスト削減を図る方法を模索しています。USP の公定書メソッドは、医薬品および原材料の試験で広く使用されています。これらのメソッドでは最新化する努力が払われていますが、新規技術を活用することで改善が可能です。

ナプロキセンは非ステロイド性抗炎症薬 (NSAID) として分類され、ジェネリック錠剤として入手可能です。1967 年に特許が取得され、世界の多くの地域で依然として処方箋が必要な医薬品として扱われていますが、米国食品医薬品局 (FDA) は 1994 年に米国で市販 (OTC) 医薬品として承認しました。USP タブレットアッセイ法では、以前は 5 μ m C18 または L1 カラムを使用していましたが、最近、同じ移動相で 5 μ m C8 または L7 カラムを使用するように改訂されました。

ナプロキセンナトリウムの構造を図 1 に示します。IUPAC 名は (S) -6-メトキシ- α -メチル-2-ナフトレン酢酸ナトリウム塩です。

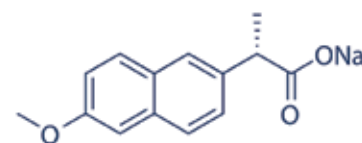


図 1. ナプロキセンナトリウムの構造

InfinityLab Poroshell 120 カラムは、一般的な LC 機器の性能を向上させる LC カラムです。これらのカラムは 2.7 μ m の表面多孔性粒子を有していて、より短いカラムでより高速な分析と高分解能を実現し、既存の機器でより多くのサンプルをより短時間で試験できます。カラムは、L1 (C18)、L7 (C8)、L11 (フェニル)、L10 (シアノ) を初めとするその他多くのフェーズで使用できます。本アプリケーションノートの作業では、L7 フェーズ (InfinityLab Poroshell 120 EC-C8) を使用しました。

実験方法

作業全体を通して、0.17 mm のチューブで構成した Agilent 1260 Infinity II LC を使用しました。表 1 に詳細を示します。

使用した新しい氷酢酸は、VWR から購入した ACS/USP グレードの新品です。アセトニトリルは Honeywell (Burdick and Jackson HPLC 認

表 1. 機器構成

Agilent 1260 Infinity II LC	
Agilent 1260 Infinity II バイナリポンプ (G7117B)	
Agilent 1260 Infinity II マルチサンプル (G7167A)	<ul style="list-style-type: none">バイアル、スクリュートップ、茶色、ラベル付き、認定、2 mL、100 個 (p/n 5182-0716)キャップ、スクリュウ、青、PTFE/赤シリコンセプタム、100 個 (p/n 5182-0717)
Agilent 1260 Infinity II マルチカラムサーモスタット (MCT; G7116A)	<ul style="list-style-type: none">標準フローヒーター G7116-60015ヒーターおよびカラム: InfinityLab クイックコネクタアセンブリ、105 mm、0.12 mm (p/n 5067-5961)
Agilent 1260 Infinity II ダイオードアレイ検出器 FS (G7117A)	<ul style="list-style-type: none">10 mm 1 μm フローセル (G4212-60008)80 Hz
Agilent OpenLab CDS, version C.01.07	

定グレード) から購入しました。水は、Millipore Milli-Q システム (0.2 μm ろ過、18 MΩ) を使用してその場で生成しました。USP ナプロキセンナトリウム RS は、米国薬局方から購入しました。移動相は、USP メソッドに従って、アセトニトリル、水、氷酢酸を混合して調製しました (500 mL : 490 mL : 10 mL)。

サンプルは、20 錠以上の錠剤から原液を作成して濃度 1.0 mg/mL に調製しました。錠剤 1 錠あたり約 220 mg であるので、20 錠で 4,400 mg が得られます。そこで、細かく粉碎した錠剤の一部のみを原液の調製に使用します。細かく砕いた錠剤約 100 mg を 100 mL のメスフラスコに移し、そこに 15 mL の水を加えて原液を調製します。次に、メスフラスコを 5 分間超音波処理し、準備した移動相 (アセトニトリル、水、氷酢酸 500 mL : 490 mL 10 mL) を 50 mL 加えました。その後、フラスコを断続的に振とうしながらさらに 30 分間超音波処理しました。フラスコを放冷したのち、準備した移動相を追加して適切な容量にしました。次に、アリコート を 5 分間遠心分離しました。そして 1 mL を 10 mL のメスフラスコに移し、移動相で希釈して 0.1 mg/mL の溶液を生成しました。¹

使用したカラム

- Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C8, 4.6 × 150, 5 μm (p/n 993967-906)
- Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C8, 4.6 × 75 mm, 2.7 μm (p/n 697975-906)
- Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C8, 4.6 × 50 mm, 2.7 μm (p/n 699975-906)
- Agilent ZORBAX RR Eclipse Plus C8, 4.6 × 100 mm, 3.5 μm (p/n 959961-906)
- Agilent ZORBAX RR Eclipse Plus C8, 4.6 × 75 mm, 3.5 μm (p/n 959933-906)

結果と考察

表 3 は、メソッドバリデーションを必要としない USP メソッド内で許容可能な調整を示しています。許可されている変更の一例として L/dp ルールがあります。カラムの長さや粒子サイズの比率を、-25 ~ +50 % の範囲内で一定に保ちます。カラムの効率をほぼ一定に保つことにより、新しいメソッドは作成されません。目的は、より効率的なメソッドを作成することではなく、より高速なメソッドを作成することです。再バリデーションなしに検出に

変更を加えることはできません。移動相は変更しません。最後に注入量は、精度および検出限界が一致する範囲内で調整可能です。注入量は幾何学的にスケールアップされます。²精度は、アッセイ法における重要な基準です。

元のカラムを用いた USP メソッドの要件に従うと、リテンションタイムが 4.55 分である場合、約 9 分という分析時間はリテンションタイムの 2 倍以上というシステム適合性要件を満たすことができます。分析時間は約 9 分となります。L/dp 比は 30,000 です。さらに、テーリングファクターは 1.05 であるので、2.0 以

表 2. 初期 LC メソッドの条件

パラメータ	設定値
カラム	L7 (Agilent ZORBAX RR Eclipse Plus C8, 4.6 × 150 mm, 5 μm)
移動相	プレミックス (アセトニトリル : 水 : 氷酢酸 450 : 540 : 10)
流量	1.2 mL/min
分析時間	ナプロキセンのリテンションの 2 倍以上
温度 (カラム)	25 °C
注入量	20 μL (小さいカラム用に幾何学的にスケールアップ)
サンプル濃度	0.1 mg/mL のナプロキセンナトリウムと名目上は同等の移動相サンプル中の 0.1 mg/mL USP ナプロキセンナトリウム RS
検出器	UV : 254 nm
システム適合性要件	テーリングファクター : 2.0 % 以下 相対標準偏差 : 2.0 % 以下

表 3. USP General Chapter <621> により許容される調整の概要

システム適合性のパラメータ	USP37-NF32S1	
	イソクラティック	グラジエント
粒子径	L/dp : -25 ~ +50 % または N : -25 ~ +50 %	変更不可
カラム長		
カラム内径	柔軟な調整が可能、一定の直線速度	変更不可
流量	dp: $F_2 = F_1 \times [(dc_2^2 \times dp_1)/(dc_1^2 \times dp_2^2)]$ に基づく追加調整 : N の減少が 20 % 以下の場合 ± 50 %	変更不可
注入量	精度および検出下限に矛盾が生じない範囲で調整可能	精度および検出下限に矛盾が生じない範囲で調整可能
カラム温度	± 10 °C	± 10 °C
移動相の pH	± 0.2 単位	± 0.2 単位
塩濃度	許容される pH 変動が満たされていれば、± 10 %	許容される pH 変動が満たされていれば、± 10 %
移動相中の成分比	微量成分 (≤ 50 %) : 相対 ± 30 %、絶対 ± 10 % を超えてはなりません。3 成分混合物では 1 つの微量成分のみが調整できます	変更不可 * * <621> には指定されていません。変更不可と仮定します
UV 検出器の波長	変更不可	変更不可

下のテーリングファクターの条件を簡単に満たします。このサンプルクロマトグラムは図 2 のようになります。

2.7 μm 粒子の 75 mm カラムに対して L/dp ルールを適用すると、比率は 27,778 になります。これは -25 ~ + 50 % の範囲内です。このルーブリックを使用して、分析時間を半分に短縮できると同時に移動相も 50 % 節約できる許容可能な変更が生じます。注入量を幾何学的に比例して減らすと、元の注入量 20 μL の半分、10 μL になります。ピーク高は元の 5 μm、150 mm メソッドと同程度で、テーリングファクターは 1.03 です。この場合のクロマトグラムを図 3A に示します。USP には、粒子が小さくなれば最適な線速度が高くなること示されています。したがって、新しく調整されたメソッドの流量は、粒子サイズ比に比例して元の公定書メソッドの最大 1.5 倍まで大きくなる場合があります。これらの変更は、式 1 に準拠します。

dp基準：

$$F_2 = F_1 \times [(dc_2^2 \times dp_1) / (dc_1^2 \times dp_2)]$$

N の減少が 20 % 以下の場合、さらに ±50 % の調整を行う

式 1.

この式は、直径が小さいカラムの調整にも使用できます。粒子サイズの変化によって流量の変化が大きくなる場合がありますが、増加量は元の流量の +50 % に制限されます。この場合のクロマトグラムを図 3B に示します。F₁ と F₂ は調整前後の流量を表し、dc はカラムの内径、dp はカラムの粒子径です。

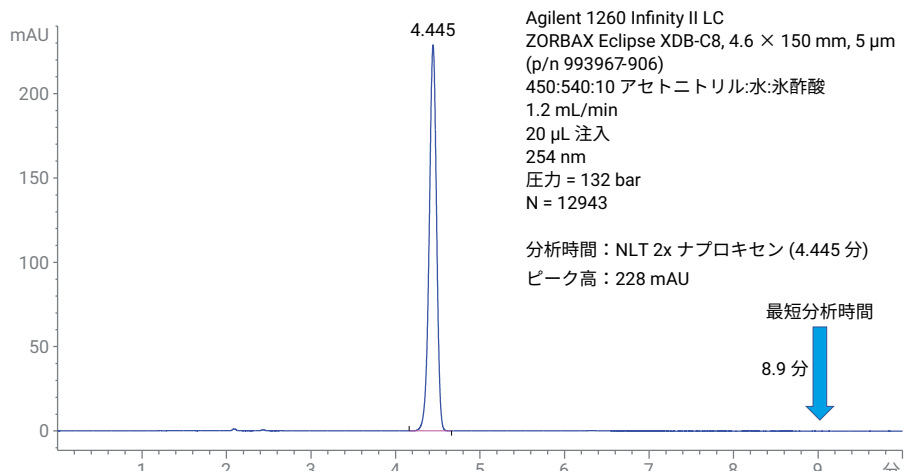


図 2. USP (米国薬局方) 相当のカラムを用いたナプロキセンナトリウムのクロマトグラム

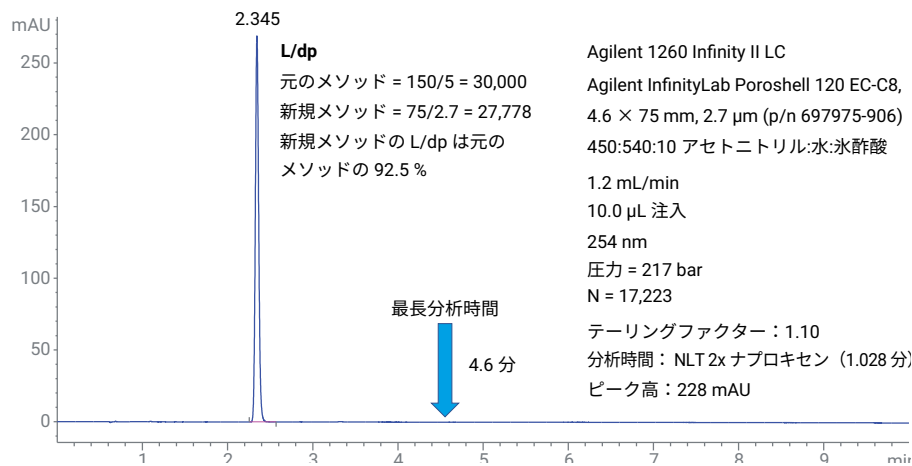


図 3A. 1.2 mL/min で Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C8 カラム (4.6×75 mm、2.7 μm) を使用したナプロキセンナトリウムのクロマトグラム

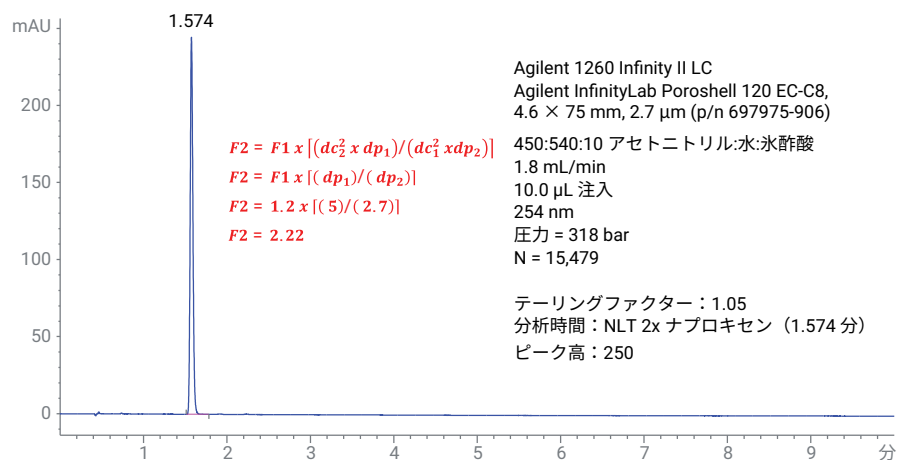


図 3B. 1.8 mL/min で Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C8 カラム (4.6×75 mm、2.7 μm) を使用したナプロキセンナトリウムのクロマトグラム

表 4 は、メソッドを5 μm 、150 mm カラムから 2.7 μm 、75 mm カラムに調整した場合のメソッドスループットの改善をまとめたものです。表からわかるように、スループットは 1.2 mL/min で 48 % 増加し、1.8 mL/min で 64 % 増加しています。短い 75 mm カラムに変更しても、節約される溶媒は 50 % で変わりません。

L/dp 比メソッドを使用する代わりに、より短いカラムでメソッドの効率を維持することができます。このルールは一般に、表面多孔性カラムに適用されます。粒子径 2.7 μm の 50 mm カラムの場合、目的的分析成分（ナプロキセン）でカラムの効率を測定します。これを、粒子径が 5 μm の元のカラムのナプロキセン効率と比較します。新しい短いカラムの効率が元のカラムの効率の -25 ~ +50 % の範囲内であれば調整は許容され、メソッド検証のみを実行すればよくなります。

図 4A は、4.6 \times 50 mm カラムを使用して 1.2 mL/min で分析したナプロキセンナトリウムのクロマトグラムを示しています。カラム容量が元の指定カラムの 3 分の 1 であるため、注入量も同様に減少させます。この例では、11,697 の効率が達成されています。これは、元の 5 μm 、150 mm メソッドの 90.4 % です。これは許容できるソリューションです。さらに、160 bar の圧力は、元のメソッドの 132 bar をわずかに上回る値です。分析時間は約 3 分です。この調整により、溶媒量は約 66 %、分析時間は 66 % 節約されます。テーリングファクターは 1.03 です。前の例で示したように、流量は元の線速度の最大 1.5 倍まで増加させられます。図 4B は、4.6 \times 50 mm カラムを使用して 1.8 mL/min で分析したナプロキセンナトリウムのクロマトグラムを示しています。この場合、新しい分析時間は 2.1 分です。溶媒の節約率は同じですが、時間の節約は元のメソッドの 76 % です。圧力は 244 bar で機器の能力範囲内に十分収まっています。

表 4. Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C8 カラム (4.6 \times 75 mm、2.7 μm) に対するナプロキセンナトリウムアッセイの USP 許容調整

カラム	カラム長 (L, mm)	粒子径 (dp, μm)	L/dp 比	許容 L/dp 範囲 (-25 % ~ +50 %)	N ナプロキセン 標準	% 短縮時間	圧力 (Bar)
全多孔性 C8 L7	150	5	30,000	22,500-45,000	12943		132
表面多孔性 C8	75	2.7	27,778	仕様を満たす	17223	48 %	217 (1.2 mL/min)
表面多孔性 C8	75	2.7	27,778	仕様を満たす	15479	64.7 %	318 (1.8 mL/min)

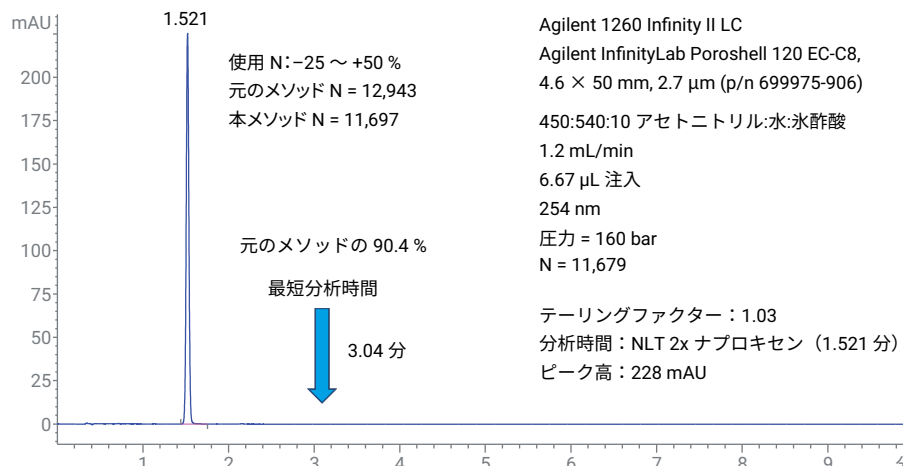


図 4A. 1.2 mL/min で Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C8 カラム (4.6 \times 50 mm、2.7 μm) を使用したナプロキセンナトリウムのクロマトグラム

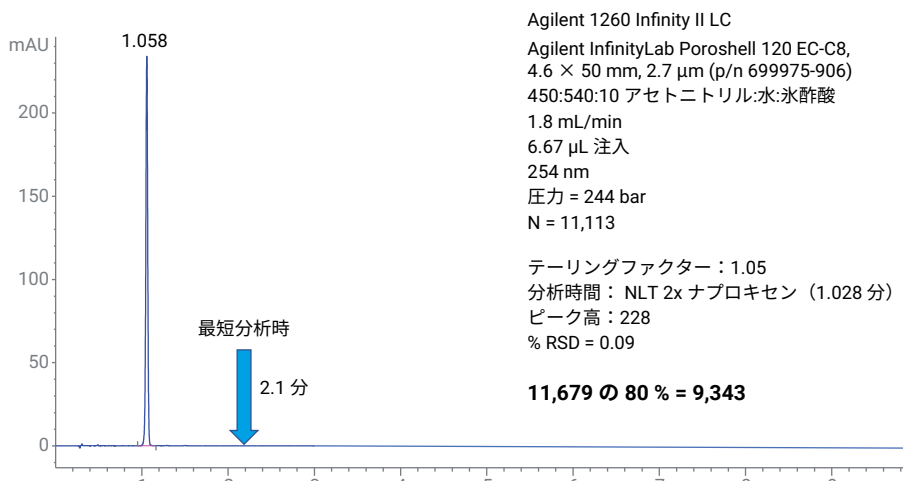


図 4B. 1.8 mL/min で Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C8 カラム (4.6 \times 50 mm、2.7 μm) を使用したナプロキセンナトリウムのクロマトグラム

表 5 は、メソッドを5 μm 、150 mm カラムから2.7 μm 、50 mm カラムに調整した場合のメソッドスループットの改善をまとめたものです。表からわかるように、スループットは1.2 mL/min で66 % 増加し、1.8 mL/min で76 % 増加しています。短い50 mm カラムに変更しても、66 % の溶媒節約率は変わりません。

3.5 μm 全多孔性カラムとの比較も行いました。4.6 \times 100 および 4.6 \times 75 mm カラムを、1.2 および 1.8 mL/min で評価しました。図 5A に、4.6 \times 100 mm ZORBAX RR Eclipse Plus C8 カラムを使用して 1.2 mL/min で分析したナプロキセンナトリウムのクロマトグラムを示します。このカラムは、L/dp ルールに従って許可される調整の範囲内です。これらの条件を使用すると、元の溶媒と分析時間を 33 % 節約できます。線速度を最大 1.8 mL/min まで上げることも可能です。このクロマトグラムを図 5B に示します。4.6 \times 75 mm、3.5 μm カラムも評価しました。この場合、L/dp ルールを満たしませんでした。効率は $N=25 \sim +50\%$ の許容を適用すると、カラムは 1.2 mL/min で許容範囲に入ります。この場合のクロマトグラムを図 5C に示します。分析時間と溶媒消費量が 50 % 削減されます。システム圧力は、130 bar で元のメソッドと同じです。ただし、流量が 1.8 mL/min (200 bar) まで増加すると、カラムの効率が -25% の範囲を下回るため、このソリューションによる調整は許容できません。この場合のクロマトグラムを図 5D に示します。これらを比較したものを表 6 に要約します。

表 5. Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C8 カラムに対するナプロキセンナトリウムアッセイの USP 許容調整 (4.6 \times 50 mm、2.7 μm)

カラム	カラム長 (L, mm)	粒子径 (dp, μm)	L/dp 比	許容 L/dp 範囲 (-25% ~ +50%)	N ナプロキセン標準	許容 N 範囲 (-25% ~ +50%)	% 短縮時間	圧力 (Bar)
全多孔性 C8	150	5	30,000	22,500 ~ 45,000	12,943			132 (1.2 mL/min)
表面多孔性 C8	50	2.7	18,518	仕様を満たさない	11,679	仕様を満たす	66 %	160 (1.2 mL/min)
表面多孔性 C8	50	2.7	18,518	仕様を満たさない	11,113	仕様を満たす	76 %	244 (1.8 mL/min)

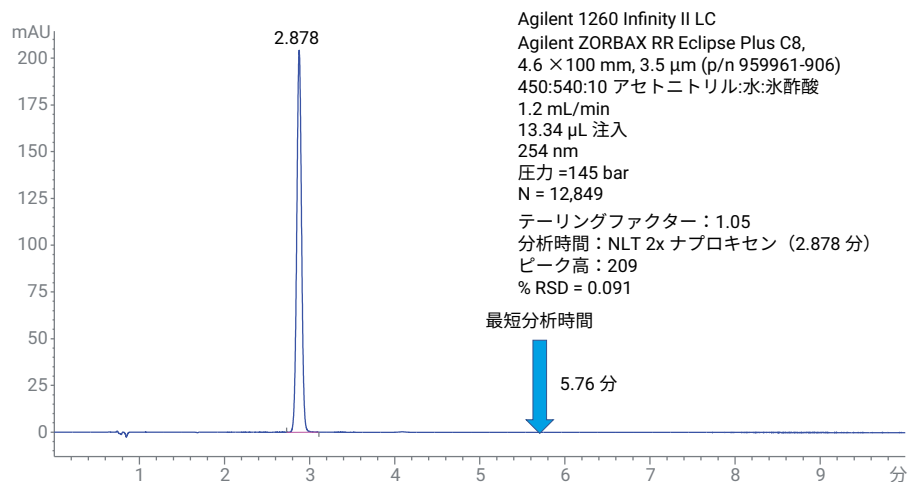


図 5A. Agilent ZORBAX RR Eclipse Plus C8 カラムを使用したナプロキセンナトリウムのクロマトグラム (4.6 \times 100 mm、3.5 μm)、1.2 mL/分

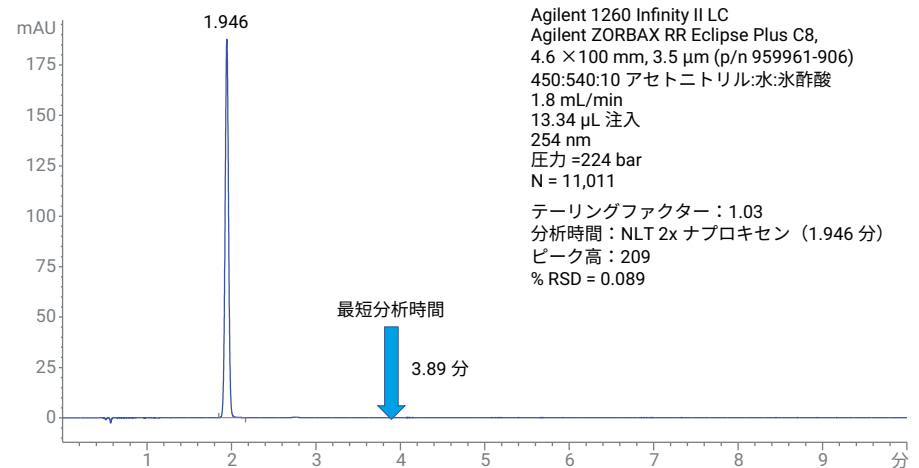


図 5B. Agilent ZORBAX RR Eclipse Plus C8 カラムを使用したナプロキセンナトリウムのクロマトグラム (4.6 \times 100 mm、3.5 μm)、1.8 mL/分

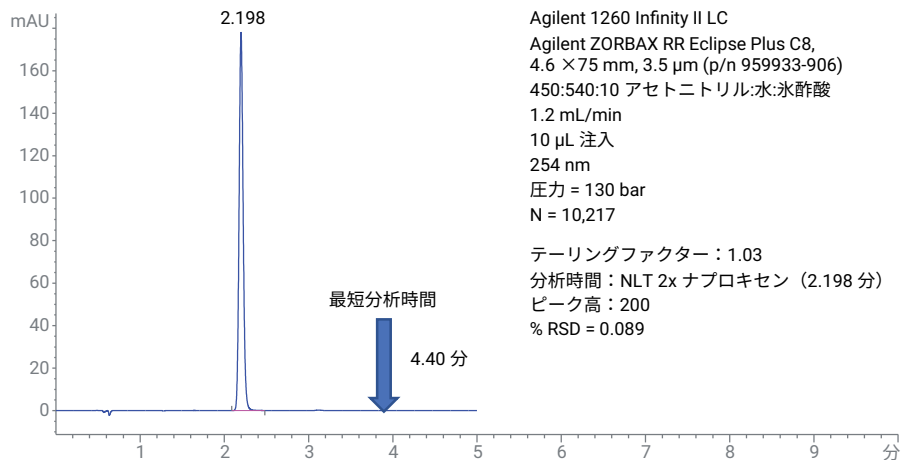


図 5C. Agilent ZORBAX RR Eclipse Plus C8 カラムを使用したナプロキセンナトリウムのクロマトグラム (4.6 × 75 mm、3.5 μm)、1.2 mL/分

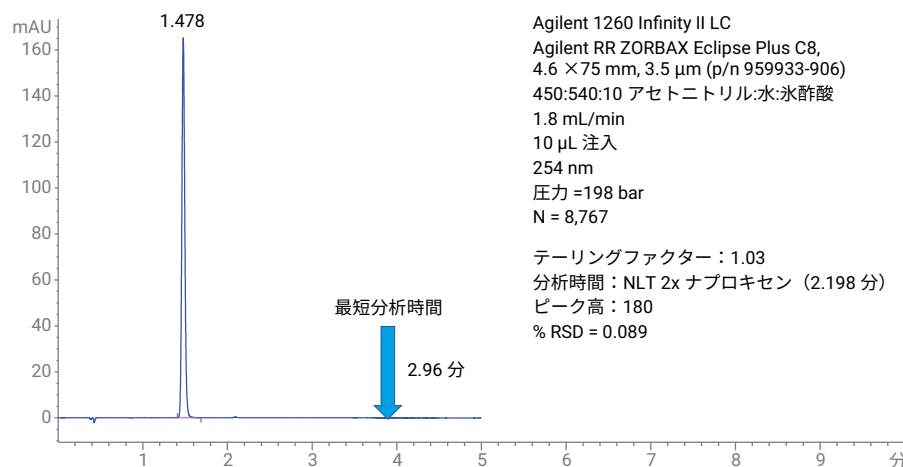


図 5D. Agilent ZORBAX RR Eclipse Plus C8 カラムを使用したナプロキセンナトリウムのクロマトグラム (4.6 × 75 mm、3.5 μm)、1.8 mL/分

表 6. Agilent ZORBAX EC-C8 カラムに対するナプロキセンナトリウムアッセイの USP 許容調整 (4.6 × 100 mm および 75 mm、3.5 μm)

カラム	カラム長 (L, mm)	粒子径 (dp, μm)	L/dp 比率	許容 L/dp 範囲 (-25 ~ +50 %)	N ナプロキセン標準	許容 N 範囲 (-25 ~ +50 %)
全多孔性 C8	150	5	30,000	22,500-45,000	12,943	9,707-19,414
全多孔性 C8	100	3.5	28,571	仕様を満たす	12,849	仕様を満たす
全多孔性 C8	100	3.5	28,571	仕様を満たす	11,011	仕様を満たす
全多孔性 C8	75	3.5	21,428	仕様を満たさない	10,217	仕様を満たす
全多孔性 C8	75	3.5	21,428	仕様を満たさない	8,767	仕様を満たさない

調整を行う際の受け入れ基準は、システム適合性要件です。ナプロキセンナトリウムアッセイの場合、分析時間を元のメソッドの 10 分から、InfinityLab Poroshell 120 EC-C8、4.6×50 mm、2.7 µm カラムのメソッドでは 2 分まで短縮できました。効率の変化に加えて、溶剤消費量も 66 % 削減されます。これは、50 mm InfinityLab Poroshell 120 2.7 µm カラムに合わせたメソッドでは典型的なものです。ナプロキセンナトリウム錠剤メソッドを使用したシステム適合性要件は、2.0 % 以下 (NMT) です。面積 RSD は 0.064 % と 0.050 % であるので、これは簡単に満たされます。さらに、USP テーリングファクターの適合性条件は NMT 2.0 ですが、1.05 であるので満たされます。これらの結果を表 7 に要約します。

結論

全多孔性の 5 µm カラムで公定分析を行っていた場合、表面多孔性の 2.7 µm InfinityLab Poroshell 120 カラムと全多孔性の 3.5 µm カラムに変更すれば、機器を交換する必要なく、高速化および溶媒の節約が実現できます。分析時間の短縮およびスループットの向上により、ラボの生産性を向上させることができます。これらの短いカラムによる調整は許可範囲であるため、追加のバリデーションは必要ありません。この場合、表面多孔性カラムでは 3.5 µm カラムよりも短時間で結果を得ることができるため、システムの適合性要件を容易に満たしつつ、ラボの生産性を向上させることができます。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2020
Printed in Japan, May 14, 2020
5994-1972JAJP
DE.9783217593

表 7. システム適合性試験の結果と分析時間のまとめ

	システム適合性要件	Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C8 (4.6 × 50 mm)、1.2 mL/min	Agilent InfinityLab Poroshell 120 EC-C8 (4.6 × 50 mm)、1.8 mL/min
USP テーリングファクター	NMT 2.0	1.03	1.03
RSD	NMT 2.0 %	面積 = 0.046 %	面積 = 0.064 %
		リテンションタイム = 0.036 %	リテンションタイム = 0.050 %
分析時間 (2 × t)	標準溶液	3.042 分	2.056 分

参考文献

1. USP Naproxen Sodium Tablet Method, United States Pharmacopeia 42 (4) Proposed IRA, Rockville, MD **2017**.
2. USP General Chapter 621, USP 37-NF32, First supplement.