

Eclipse Plus C8 カラムを用いた 医薬品 HPLC 分析のピーク形状と生産性の向上

アプリケーション

医薬品

著者

John W. Henderson Jr., Nona Martone, and Cliff Woodward
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19808-1610
USA

要約

ZORBAX Eclipse Plus C8 カラムを採用した医薬品の分析例を 7 件紹介します。Eclipse Plus C8 は、塩基、酸、中性化合物に対して優れたピーク形状を示すため、メソッド開発の最初の選択肢に適したカラムです。優れたピーク形状は良好なピーク分離能につながります。Eclipse Plus C8 は Eclipse XDB C8 や Eclipse Plus C18 とは異なる選択性を示します。C8 短鎖脂肪酸化合物は C18 長鎖脂肪酸化合物よりも保持が低く、C18 と比較して分析時間を大幅に短縮できます。さらに、すべての分析カラム、ラピッドレゾリューション (RR) カラム、ハイスループット分析に使用可能な広範囲のカラムコンフィグレーションがあります。分析例のいくつかは、長いカラムを RR カラムに置き換えることで、分析メソッドから RR メソッドにスケールダウンされます。この優れたピーク形状とハイスループットメソッドへの拡張性により、Eclipse Plus C8 は HPLC の生産性を高める有効な手段です。

緒言

1 つのカラムがあらゆる分析に完璧に対応するわけではないため、HPLC カラムの技術は継続的に進化し、更なる研究が続けられています。製薬業界では、創薬や製品開発において、限られた時間内に、正確かつより多くの分析をこなすことができる高性能カラムが必要です。製品化の見込みのある薬品を迅速に評価することは、競争上、有利になります。さらに、政府や業界による規制は、機器やメソッドといった分析のすべての面において、ますます大きいプレッシャーになっています。空気や水から食品までのすべてが、品質と安全性を綿密に検査されます。信頼性の高い結果を導くには、堅牢な機器類やメソッドが不可欠であり、高品質の HPLC カラムが必要とされています。

ZORBAX Eclipse Plus C8 カラムは、さまざまな粒径とカラム径で提供されており、生産性向上のための優れたツールです。酸、中性、塩基化合物に対して優れたピーク形状と効率を示します。これらはメソッド開発に最適な第 1 の選択肢です。

Eclipse Plus C8 の選択性

カラムの選択はいくつかの要因に基づきます。通常、選択性はカラムの選択で最も重要な要因の 1 つです。選択性 (α) は 2 つのピークの保持比です:

$$\alpha = k_2 / k_1$$



Agilent Technologies

ここで、 k_2 と k_1 はそれぞれ 2 番目に溶出するピークと最初に溶出するピークの保持または容量の係数です。2 つのピークが共溶出する場合、 α は 1 で、間隔の接近したピークでは、選択性 (α) は 1 に近い値です。選択性、ピーク間隔は温度、移動相、固定相 (カラム) によって変わります。選択性は分析対象成分と相との相互作用現象であるため、不明なことが多く、予想しにくく、通常、最適化するためには経験が必要です。さまざまなカラムが揃っていれば、不安定性、溶解度、あるいはその他の

制約により、特に移動相を変更することが好ましくない場合、簡単に α を変えることができます。図 1 には、同一クロマトグラフ条件下での Eclipse Plus C8、Eclipse Plus C18、Eclipse XDB C8 カラムの選択性の違いを示します。Eclipse Plus C8 を Eclipse XDB-C8 と比較すると、3 つの非常に異なる分析対象成分の分離に対して α は 6% 変化するだけで、分離係数は 1.23 から 2.42 に倍増します。

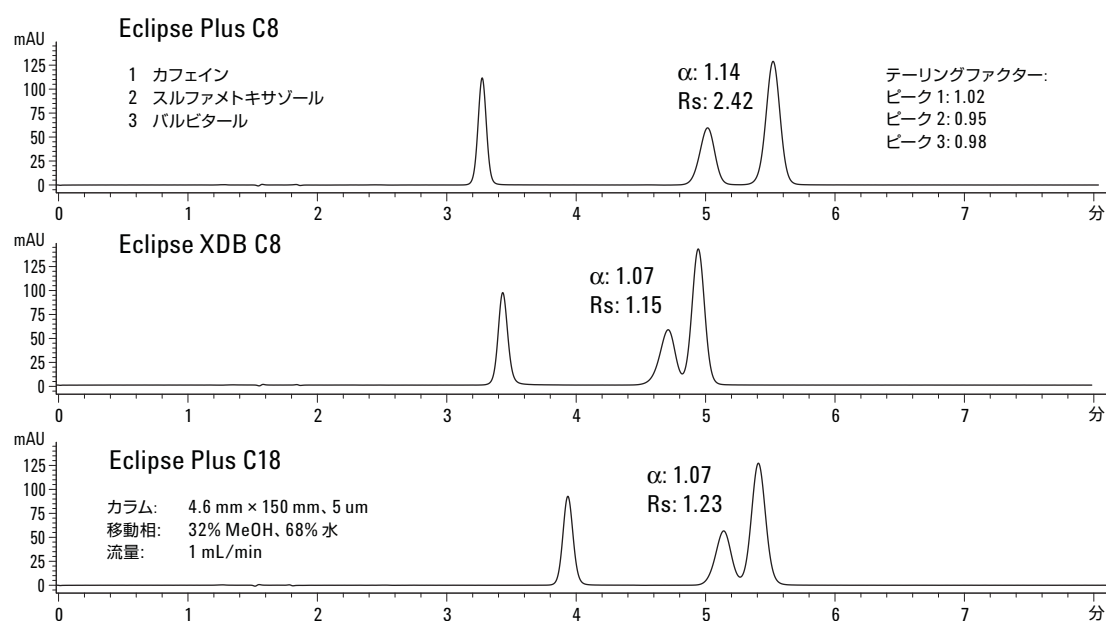


図 1. Eclipse Plus C8 とその他の固定相の選択性の差

これらのカラムには、同じ ZORBAX ベースシリカやアジレントが管理する製造技術などの類似性があるため、示されるような類似した溶出パターンが期待されます。しかし、Eclipse Plus と Eclipse XDB、C18 と C8 の官能性には、独自のシリカ処理や結合などの顕著な違いがあります。これらの違いは選択性の違い、最終的には分離能の向上の原因となります。 α が 1 に近く、間隔が密接したピークでは、 α の小さな変化が分離能に大きな影響を及ぼします。 α が 1.07 から 1.14 に変化したとき、分離能は 1.15 から 2.42 になりました。

ラピッドレゾリューションカラム (RR)

大きな粒子と比較した場合、小さな径の利点はその高い効率です。これを利用して、生産性の向上を図ることが可能です。小さな粒子が充てんされた短いカラムは、長いカラムと比較して、十分な分離を維持しながら分析を大幅に速めることを可能にします。図 3、4、5 は分析サイズの (4.6 x 150 mm、5 μ m) Eclipse Plus C8 カラムを、短いラピッドレゾリューション (RR) (4.6 x 50 mm、

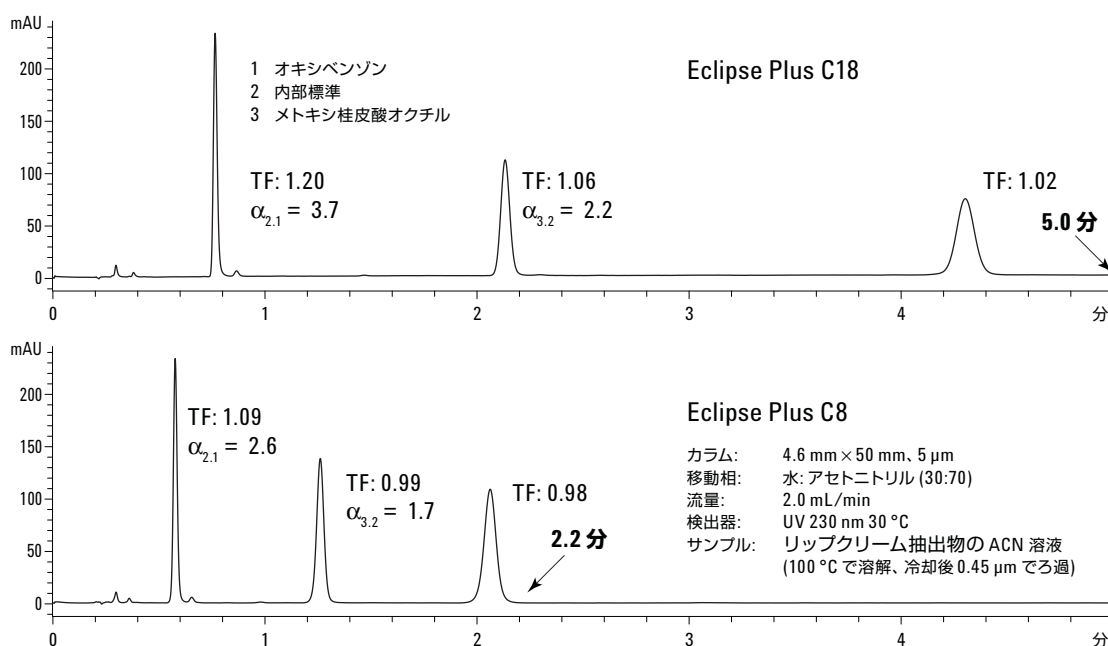


図 2. C18 と C8 の選択性の違いによるリップクリームの分析時間の短縮

C8 カラムは長アルキル鎖 C18 カラムよりも保持が弱いことがよくあり、分析時間を短縮しながら、優れた選択性を提供することができます。図 2 では、Eclipse Plus C8 が、Eclipse Plus C18 カラムと比較して、分析時間を半分に短縮できることを示します。Eclipse C8 の短鎖脂肪族化合物は分析対象成分との疎水性相互作用が小さく、そのため、カラムからより早く溶出します。C18 カラムでピークが分離するように設計された多くのメソッドでは、カラムを Eclipse Plus C8 に切り換えれば、より短時間で簡単にピーク分離を達成できる可能性があります。

表 1. 高速高分離 RR カラムから得られる感度

最終溶出ピークの高さ (mAU)			
分析	カラム	RR カラム	RR のゲイン (%)
バルビタール	18.9	41.1	54
洗口液	47.4	90.8	48
パラベン	43.5	97	55
最終溶出ピークの面積			
分析	カラム	RR カラム	面積の変化 (%)
バルビタール	155.4	155.6	0
洗口液	1083.8	1089.8	1
パラベン	322.7	327	1

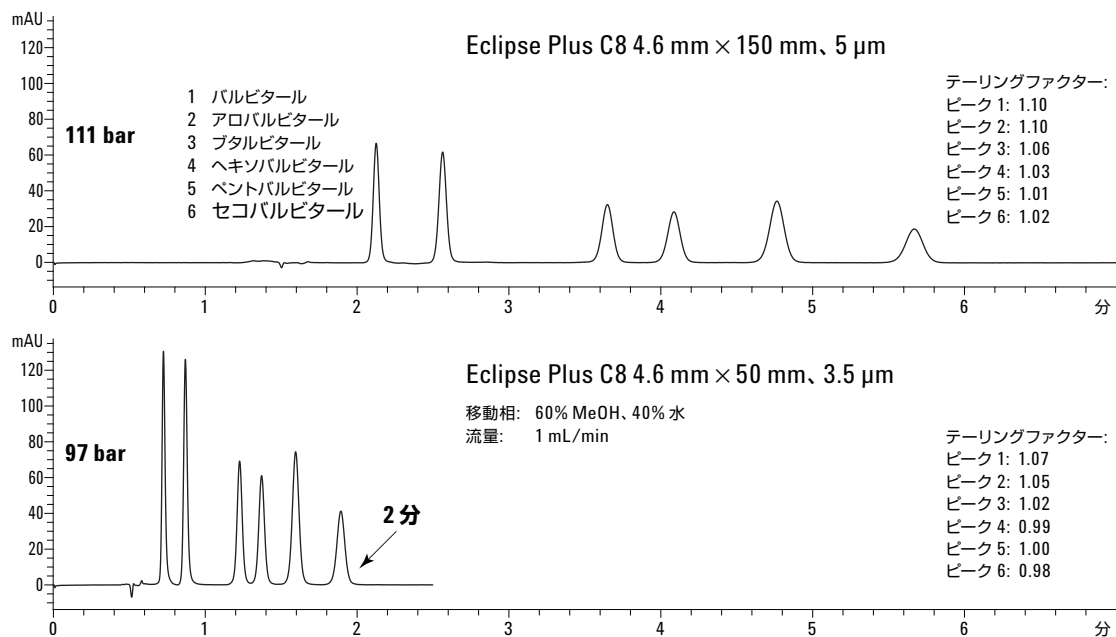


図 3. バルビツール酸系催眠薬の高速高分離分析

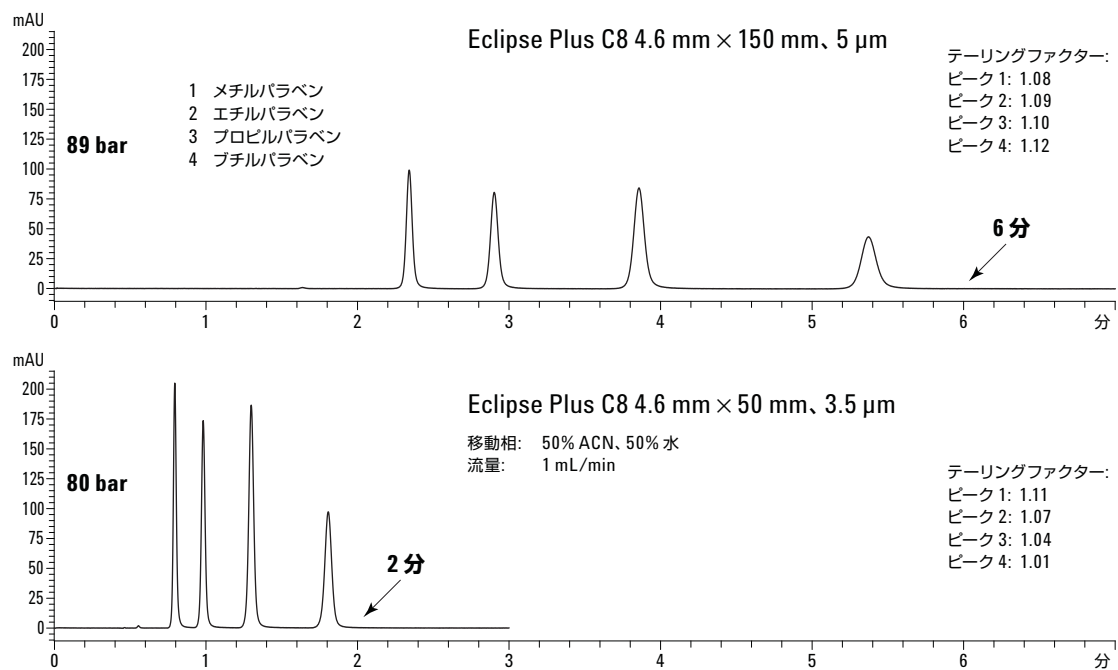


図 4. パラベンの高速高分離分析

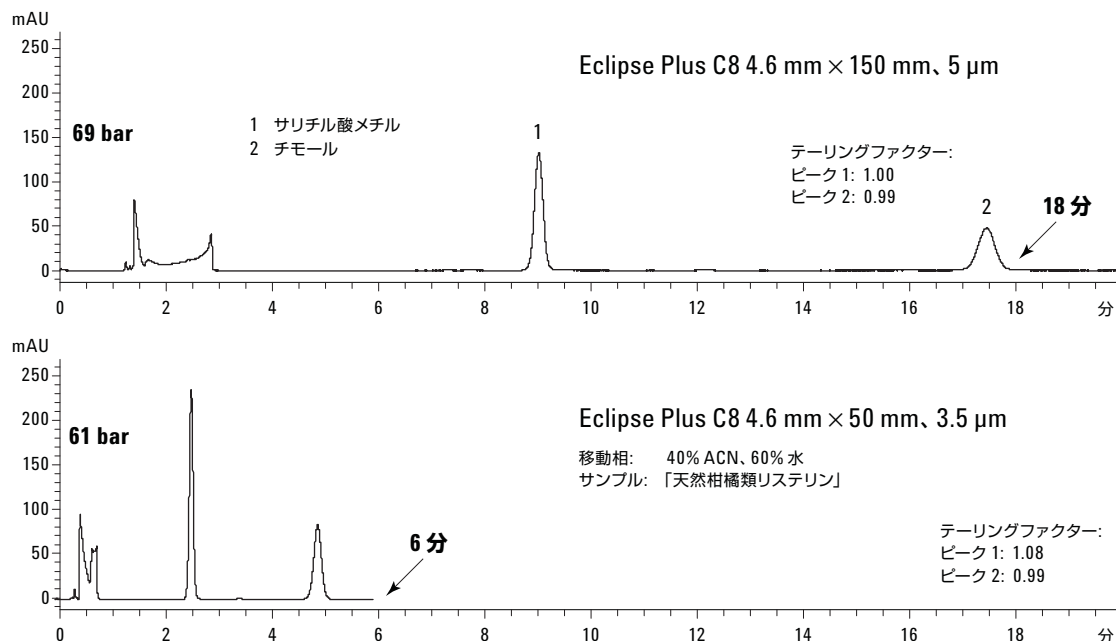


図 5. 洗口液中の有効成分の高速高分離分析

3.5 μm) カラムに置き換えた例です。カラムを置き換えることで、十分な分離能を維持しながら、カラム長に比例して分析時間を大幅に短縮します。小さな粒径を選択することで、感度も大幅に向上します。表 1 には、3 つの例で、長いカラムと RR カラムの最終溶出ピークの高さ、面積、割合の差を示します。注入量は変わらないので、面積は両方のカラムで同じです。しかし、ピーク高さ (感度の尺度 [S/N 比]) は RR カラムの方が約 50% 高くなります。システム背圧も各々の例に対して示されています。圧力は全 3 種類の例でほぼ同じです。RR カラムの小さな粒子 (3.5 x 5 μ) から生じる高压は、短いカラム長 (50 x 150 mm) により相殺されます。すべての圧力は、Agilent 1100 および 1200 シリーズ LC 両方の動作範囲内です。必要に応じて、さらなる高流量と高速分析の検討も可能です。

Eclipse Plus C8 は、1.8、3.5、5 μm の粒径で、すべての分析用、高分離、高速 LC 分析用に提供されています。表 2 には提供されているカラムの種類を記載します。

塩基性化合物の優れたピーク形状

Eclipse Plus カラム (C8 および C18) の最も優れた特長は、酸、塩基、中性すべての種類のサンプルに対するピーク形状です。上記の例では、USP テーリングファクターで示されたピーク形状が図 3 から図 5 に記載されています。すべての場合で、理想 (1.0) に近くなっています。高レベルの性能 (ピーク形状、効率、分離能) は、一貫した製造管理とともに、特許のシリカ製造および結合によるものです。

塩基性化合物 (特にアミン含有分子) は、しばしば高性能逆相クロマトグラフの課題となります。低 pH (pH < 3) では、塩基性化合物はプロトン化され (BH⁺)、水溶性が高くなるのでうまく保持されません。pH 7 では、一部のアミンはプロトン化されていますが、それ以外はプロトンを失っています (B)。シリカ上の未反応シラノールはイオン化され (SiO⁻)、プロトン化されたイオン種と相互作用します。この種のイオン交換二次相互作用はピークテーリングを生じます。低 pH では、シラノールはイオン化されず (SiOH)、塩基性分析対象成分との相互作用は起こりません。

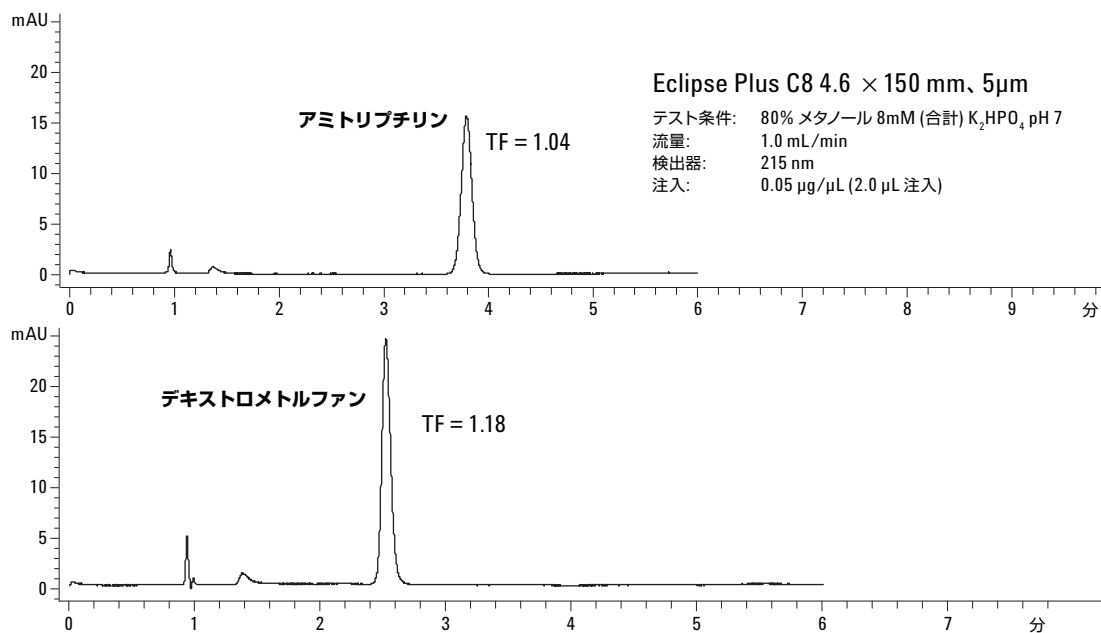


図 6. Eclipse Plus C8 での塩基性薬品の優れたピーク形状

図 6 に、pH 7 の同条件で分析された 2 つの塩基性化合物の例を示します。これら 2 つの化合物、アミトリプチリンとデキストロメトルファンは、その部分的なイオン化、B と BH⁺ との相互転換により、その他のカラムの中性 pH では過剰にテーリングを生じることが知られています。しかし、Eclipse Plus C8 が使用された場合、ピーク形状は良好です。Eclipse Plus には、独自の ZORBAX シリカ処理、エンドキャップ、結合があり、イオン化シラノールとの相互作用を減らし、ピーク形状を劇的に向上させます。

結論

Eclipse Plus C8 カラムで、多くの HPLC アプリケーションを改善させることが可能です。Eclipse Plus C8 により提供される酸、塩基、中性化合物の対称的なピーク形状は、メソッド開発における理想的な第 1 の選択肢となります。ピークの対称性は分離能や効率に影響を及ぼし、間隔の近いピークの分離を改善させます。Eclipse Plus C8 は C8 や C18 の相と比較してわずかに異なる選択性も有し、メソッド開発の良い選択肢になります。間隔の近いピークの選択性における小さな差は、分離能に大きな差をもたらすことがあります。Eclipse Plus C8 が可能にする優れたピークは、3 種の粒径から選択できる豊富なカラムコンフィグレーションとともに、既存のメソッドを簡単にハイスループットメソッドに変換することを可能にします。

表 2. Eclipse Plus C8 カラムコンフィグレーション

Eclipse Plus 詳細情報			
カラム説明	サイズ (mm)	粒径 (μm)	Eclipse Plus C8 USP L7
分析カラム	4.6 x 250	5	959990-906
分析カラム	4.6 x 150	5	959993-906
分析カラム	4.6 x 100	5	959996-906
分析カラム	4.6 x 50	5	959946-906
ラピッドレゾリューションカラム	4.6 x 150	3.5	959963-906
ラピッドレゾリューションカラム	4.6 x 100	3.5	959961-906
ラピッドレゾリューションカラム	4.6 x 75	3.5	959933-906
ラピッドレゾリューションカラム	4.6 x 50	3.5	959943-906
ラピッドレゾリューションカラム	4.6 x 30	3.5	959936-906
ラピッドレゾリューションカラム HT	4.6 x 100	1.8	959964-906
ラピッドレゾリューションカラム HT	4.6 x 50	1.8	959941-906
ラピッドレゾリューションカラム HT	4.6 x 30	1.8	959931-906
ソルベントセーバカラム	3.0 x 150	5	959993-306
ソルベントセーバカラムプラス	3.0 x 150	3.5	959963-306
ソルベントセーバカラムプラス	3.0 x 100	3.5	959961-306
ソルベントセーバ HT カラム	3.0 x 100	1.8	959964-306
ソルベントセーバカラム HT	3.0 x 50	1.8	959941-306
ナローボアカラム	2.1 x 150	5	959701-906
ナローボアカラム	2.1 x 50	5	959746-906
ナローボアカラム RR	2.1 x 150	3.5	959763-906
ナローボアカラム RR	2.1 x 100	3.5	959793-906
ナローボアカラム RR	2.1 x 50	3.5	959743-906
ナローボアカラム RR	2.1 x 30	3.5	959733-906
ナローボアカラム RRHT	2.1 x 100	1.8	959764-906
ナローボアカラム RRHT	2.1 x 50	1.8	959741-906
ナローボアカラム RRHT	2.1 x 30	1.8	959731-906
ガードカートリッジ、4 本	4.6 x 12.5	5	820950-937
ガードカートリッジ、4 本	2.1 x 12.5	5	821125-937
ガードハードウェアキット			820888-901

詳細情報

アジレント製品とサービスの詳細については、アジレントのウェブサイト www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

アジレントは、本資料に誤りが発見された場合、また、本資料の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。また、本資料掲載の機器類は薬事法に基づく登録を行っておりません。

本資料に記載の情報、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。著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本資料を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

© Agilent Technologies, Inc. 2006

Printed in Japan
November 7, 2006
5989-5803JAJP



Agilent Technologies