

## イブプロフェンアッセイおよび有機不純物の USP 分析法の Alliance™ iS HPLC System への移管

---

Corey E. Reed, Paula Hong

Waters Corporation

### 要約

分析法の移管（ある高速液体クロマトグラフィー（HPLC）システムから別のシステムに分析法を移行すること）は、1つのラボに複数のベンダーが製造した様々な HPLC システムやモデルが存在することがある多くの規制環境下のラボで日常的に行われています。ただし、システム間での分析法の移管は、装置設計の間の相違によりクロマトグラフィーの変化につながり、それが重要な結果に影響する可能性があるため、困難になる場合があります。また、システムの適切な設定や操作の習熟が不足している場合も、結果が不良になり、エンドユーザーがそれを特定するのが非常に難しくなる可能性があります。Alliance iS HPLC System では、分析法の移管をより簡単にして使いやすさを改善し、分析者のミスが減らしてシステムの信頼性を高めると同時に、クロマトグラフィーおよび定量の性能を維持することを目指しています。この試験では、イブプロフェンおよびその関連不純物の分析に用いる米国薬局方（USP）のモノグラフ分析法を2種類の古い HPLC システムで再現し、続いて Alliance iS HPLC System に移管します。結果を分析および比較したところ、3つのシステムすべてで同等の結果が得られると同時に、USP システム適合性要件を満たしていることがわかりました。

### アプリケーションのメリット

- システム適合性要件を満たす Alliance iS HPLC System に USP モノグラフを移管する機能
- 一貫して信頼性の高い定量結果
- ユーザーミスの低減

---

## はじめに

規制環境下のラボすべてにおいて、移管（2種類のLCシステムの間での分析法の移行）は重要な検討事項です。システムの可用性が原因で、および/またはシステムの向上を利用するために、分析装置の最新化が多くの場合に必要です。システムの違いにより、クロマトグラフィーが変化し、重要な結果に影響することがあります。さらに、システムに精通していないことが、不適切なシステムのセットアップや操作につながる可能性があります。

この試験では、イブプロフェンおよび関連する有機不純物をアイソクラティック分離する米国薬局方（USP）モノグラフを使用して、HPLCシステム間での分析法移管を評価します。ピーク面積の%RSD、保持時間の%RSD、USPテーリング、シグナル対ノイズ比（s/n）、分離度などのシステム適合性基準を評価します。分析は、2種類の古いHPLCシステムおよび最新のHPLCであるAlliance iS HPLC Systemで行います（図1）。得られた分析結果により、分析法を新しいLCシステムに移行し、ラボでのHPLCシステムの最新化を可能にする機能が実証されています。



図 1. Alliance iS HPLC System

---

## 実験方法

すべてのサンプルは USP 41-NF 36 に従って前処理します。

### アッセイ

- 標準溶液は、移動相中に 10.0 mg/mL イブuproフェン（製品番号 I4883-5G、Sigma-Aldrich）が含まれるように調

製しました。

## 有機不純物

- 感度試験用溶液は、移動相中に 0.005 mg/mL イブプロフェンが含まれるように調製しました。
- 標準溶液には、0.2 mg/mL イブプロフェン、0.01 mg/mL イブプロフェン類縁物質 J (RCJ) (製品番号: PHR1978-50MG、MilliporeSigma)、および 0.01 mg/mL イブプロフェン類縁物質 C (RCC) (製品番号: PHR1146-500MG、MilliporeSigma) が含まれます。
- システム適合性溶液には、10.0 mg/mL イブプロフェン、0.01 mg/mL イブプロフェン類縁物質 J (RCJ) (製品番号: PHR1978-50MG、MilliporeSigma)、および 0.01 mg/mL イブプロフェン類縁物質 C (RCC) (製品番号: PHR1146-500MG、MilliporeSigma) が含まれます。

## サンプル

- 移動相中に公称濃度 10.0 mg/mL イブプロフェンが含まれています。薬局から購入したイブプロフェンのジェネリック錠を、有効期限が過ぎてから分析しました。

## LC 条件

LC システム:	1. 古いシステム 1 2. 古いシステム 2 3. Alliance iS HPLC System
検出:	1.2489 UV/Vis 検出器、254 nm @ 2 ポイント/秒 2. ダイオードアレイ検出器 (DAD)、254 nm @ 2.5 Hz 3.デュアル波長 UV 検出器、254 nm @ 2 ポイント/秒
バイアル:	TruView pH Control LCMS 品質保証バイアル、製品番号: 186005666CV
カラム:	XBridge C <sub>18</sub> 、250 × 4.6 mm、5 μm (製品番号: 186003117)
カラム温度:	25.0 °C

サンプル温度:	15.0 °C
注入量:	10.0 µL
流速:	2.0 mL/分
移動相:	40: 60 Milli-Q 水: アセトニトリル (ACN) (pH 3.0) 中 4 g/L クロロ酢酸 (製品番号: C19627、MilliporeSigma)
メソッド:	10 分間のアイソクラティックメソッド

## データ管理

クロマトグラフィーソフトウェア:	Empower™ 3 FR 4
------------------	-----------------

---

## 結果および考察

### 古い HPLC システムからのアッセイおよび有機不純物分析法の移管

さまざまな HPLC システムが市販されているため、ラボには長年にわたって購入されたさまざまな製造元のシステムが置かれていることがよくあります。最新の HPLC システムのラボへの導入に伴い、バリデーション済みの分析法を使用して、古いシステムで得られた結果と同等の結果が得られることを保証する必要があります。この試験では、イブプロフェンアッセイおよび有機不純物用のモノグラフを使用して、2 種類の古い HPLC システムと Alliance iS HPLC System でのシステム性能を評価します。

この分析のため、移動相調製およびサンプル前処理を別々に行って各システムで測定しました。モノグラフに従い、すべての場合で同じカラムを使用して、装置には関連しないばらつきを減らしました。イブプロフェンアッセイと有機不純物分析法の両方で、同じ移動相およびカラムを使用し、それぞれに異なるサンプルを使用します。

従来の方法を用いてシステム適合性を計算し（感度溶液注入内のベースラインのセグメントからの s/n の計算を含む）、アッセイと有機不純物の結果を、表 1 および 2 に示します。アッセイでは、イブプロフェン標準試料を 5 回繰り返

し注入する必要があり、すべてのシステムでシステム適合性基準が満たされ、すべての値が仕様を十分下回っていました（表 1）。各システムでサンプルセットを測定した直後に、感度溶液、システム適合性標準試料、標準試料が（この順で）含まれる有機不純物のサンプルセットを注入して測定しました。図 2 に、各システムで得られた有機不純物システム適合性溶液の代表的なクロマトグラムを示します。3 つのシステムすべてが良好に機能し、有機不純物の USP 要件をすべて満たしていました（表 2）。Alliance iS は、両方の標準試料について、ピーク面積と保持時間の標準偏差が最も小さく、有機不純物標準試料について、優れた分離と s/n が見られました。有機不純物標準溶液を 6 回繰り返し注入して得た Alliance iS HPLC System の再現性の結果を図 3 に示します。

表 1

イブuprofen錠剤の USP 分析法				
基準	USP 仕様	システム		
		古いシステム 1	古いシステム 2	Alliance iS HPLC System
標準面積の %RSD	2.0% 以下	0.1%	0.1%	0.1%
標準保持時間の %RSD	2.0% 以下	0.0%	0.1%	0.0%
標準テーリング係数	2.5 以下	1.5%	1.7%	1.8%
サンプル中イブuprofenの割合 (%)	ラベル表示の 90.0 ~ 110.0%	99.2%	104.6%	103.6%

表 2

イブプロフェン錠中の有機不純物の USP 分析法へのシステム適合性				
基準	USP 仕様	システム		
		古いシステム 1	古いシステム 2	Alliance iS HPLC System
イブプロフェンの面積の RSD	6.0% 以下	3.3%	0.6%	0.4%
RC J の面積の RSD	6.0% 以下	0.1%	0.3%	0.1%
RC C の面積の RSD	6.0% 以下	0.3%	0.1%	0.1%
イブプロフェンの保持時間の %RSD	6.0% 以下	0.0%	0.1%	0.0%
RC J の保持時間の RSD	6.0% 以下	0.0%	0.1%	0.0%
RC C の保持時間の RSD	6.0% 以下	0.0%	0.1%	0.0%
システム適合性溶液				
分離度 (HH) RCJ - イブプロフェン	2.5% 以上	13.5	13.8	15.5
分離度 (HH) イブプロフェン - RC C	2.5% 以上	8.2	8.1	8.7
感度溶液				
シグナル対ノイズ比	10 以上	12	52	79
サンプル				
% RC J	0.2% 以下	0.0%	0.0%	0.0%
% RC C	0.25% 以下	0.00%	0.00%	0.00%
未特定物質 1 (%)	0.2% 以下	0.1%	0.1%	0.1%
未特定物質 2 (%)	0.2% 以下	0.7%	1.0%	1.1%
未特定物質の合計 (%)	1.5% 以下	0.8%	1.1%	1.2%

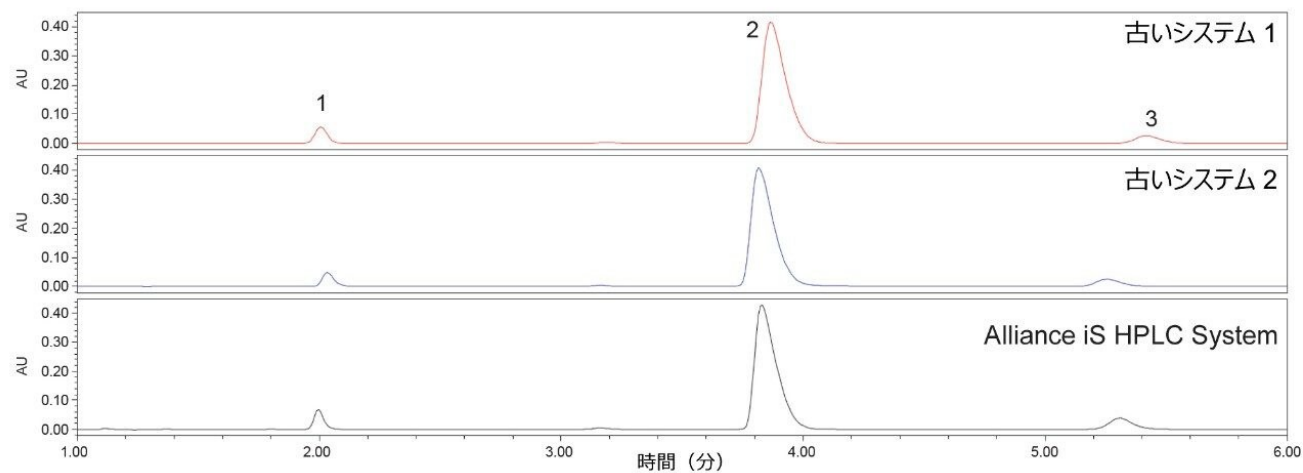


図 2: 各システムで得られた有機不純物システム適合性溶液の代表的なクロマトグラム。ピーク 1 = 類縁物質 J。ピーク 2 = イブプロフェン。ピーク 3 = 類縁物質 C。

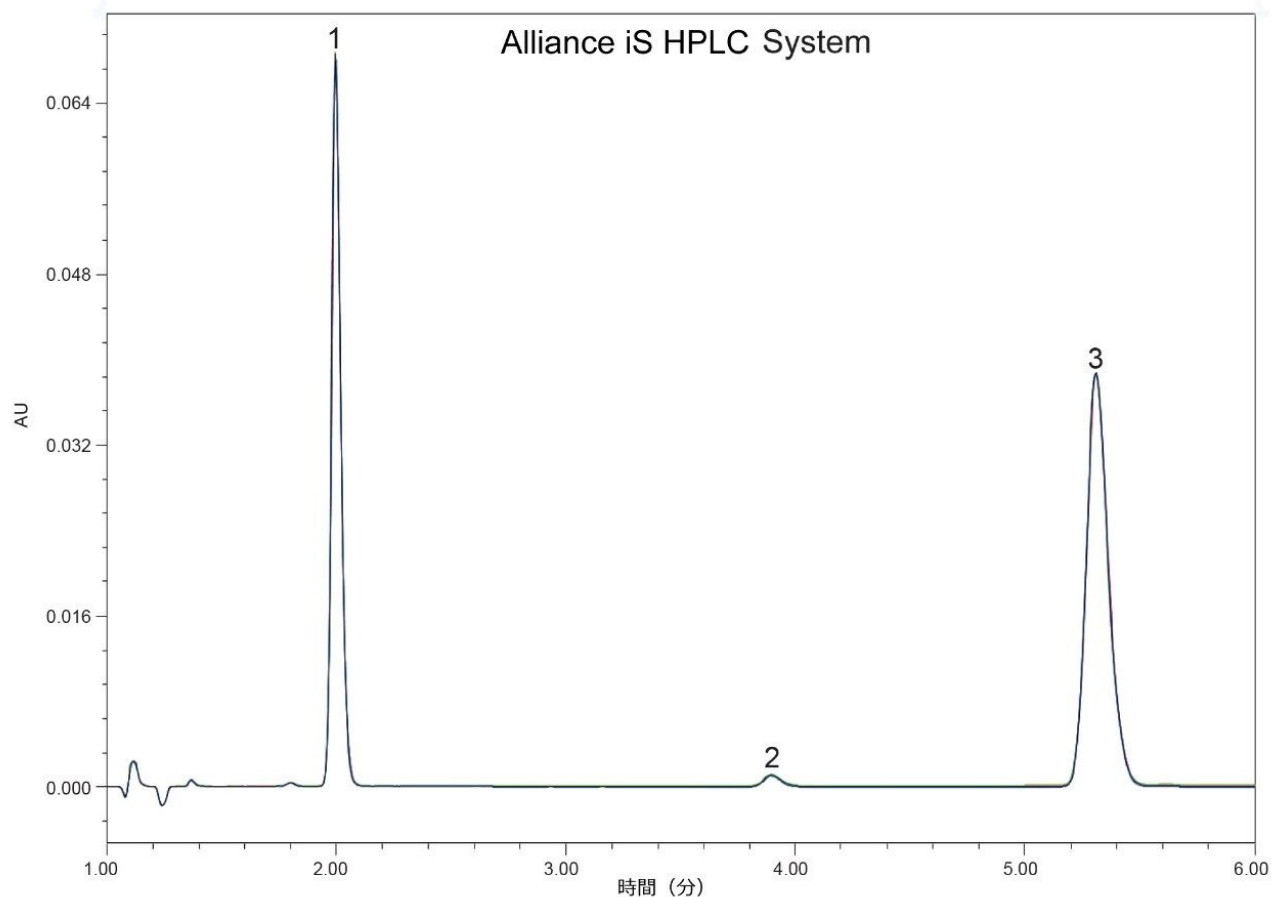


図 3: Alliance iS HPLC System で得られた有機不純物標準溶液のクロマトグラムの重ね描き。N = 6。ピーク 1 = 類縁物質 J。ピーク 2 = イブプロフェン。ピーク 3 = 類縁物質 C。

## 分離度および S/N 比についてのシステム適合性計算の更新

<621> に対する最近の更新は、USP 分離度と USP s/n 比計算の両方に影響します<sup>1</sup>。ベースラインと関連して報告される USP 分離度は、半値幅で測定するように更新されています。いずれの値も、システム適合性を導入した Empower によって報告されるものです。表 2 に示すように、半値幅での USP 分離度の報告値は、システム適合性基準を満たす機能に影響しません。

USP 分離の更新とともに、s/n の判定にも変更が加えられました。従来、s/n はブランク注入またはクロマトグラム中の安定したベースラインを使用して計算できました<sup>2</sup>。ベースラインが十分に安定しているアイソクラティックメソッドの場合、クロマトグラム中のベースラインが安定しているセクションを使用することで解析が簡素化されました。最近の更新では、ブランク注入、および対象ピーク周辺を中心とする半値幅でのピーク幅の 20 倍または 5 倍でのノイズ



を使用することが推奨されています（図4）。このガイダンスに基づいて、有機不純物感度サンプルの  $s/n$  を、3種類のシステムすべてで、3つの方法すべてを使用して計算しました（表3）。1つの古いシステムと Alliance iS HPLC System では、いずれの測定法を使用しても  $s/n$  基準が満たされており、半値幅でのピーク幅の20倍を使用した場合に最も低い  $s/n$  が認められました。2番目の古いシステムでは、ピーク幅の20倍での  $s/n$  が10以上というシステム適合性基準を満たさず、従来の USP の計算に変更を加えるという課題が生じました。重要なこととして、Alliance iS HPLC System では20倍での測定で最高の  $s/n$  が得られ、古いシステムと比較して、クロマトグラム全体にわたってベースラインの安定性が優れていることが示されました。

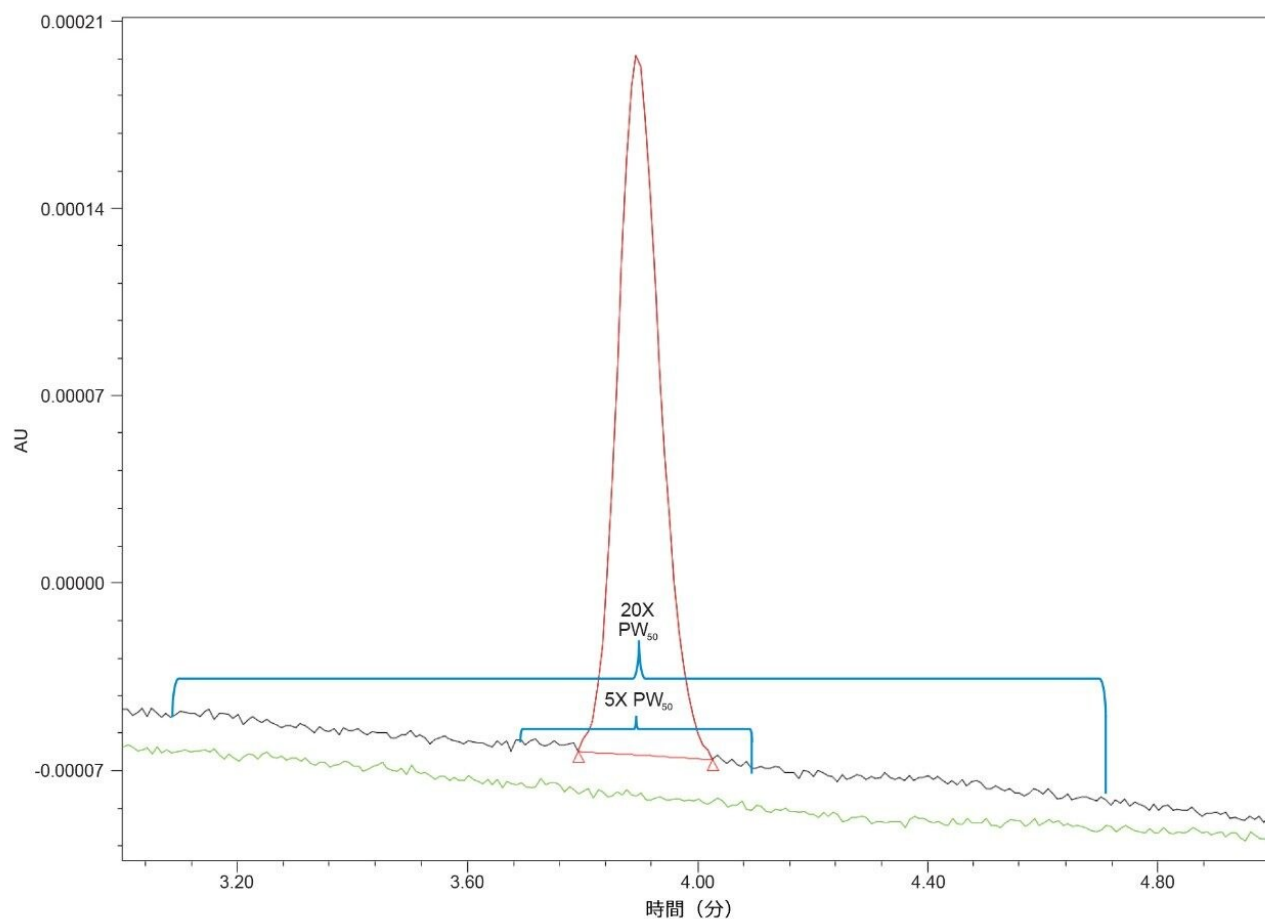


図4: Alliance iS HPLC System で得られた感度溶液とブランク注入のクロマトグラムの重ね描き。PW<sub>50</sub> = 半値幅でのピーク幅。

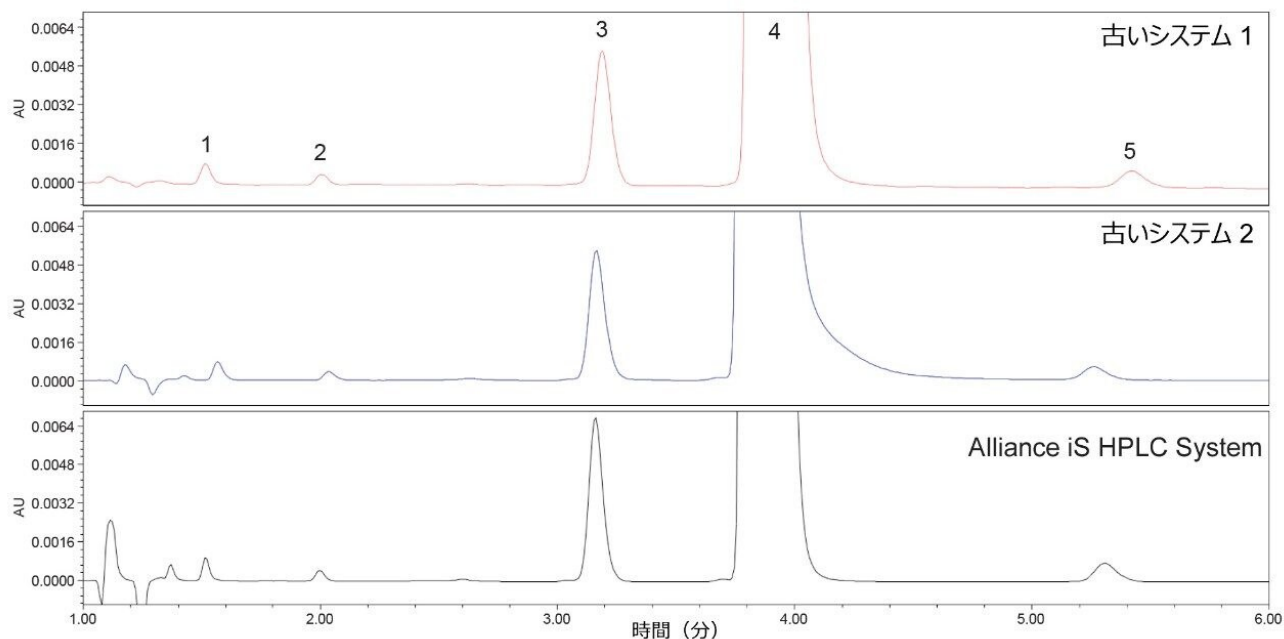


図 5: 分析の有機不純物部分の間に実行し、既知不純物および未知不純物の測定に使用したサンプル溶液のクロマトグラムの積み重ね。クロマトグラムは、2 回の注入のうち 2 番目の注入を示しています。ピーク 1 = 未知化合物 1。ピーク 2 = 類縁物質 J。ピーク 3 = 未知化合物 2。ピーク 4 = イブuproフェン。ピーク 5 = 類縁物質 C。

表 3

USP シグナル対ノイズ比				
メソッド	USP 要件	システム		
		古いシステム 1	古いシステム 2	Alliance iS HPLC System
注入内	10 以上	12	52	79
ブランク中 5X PW <sub>50</sub>		21	94	84
ブランク中 20X PW <sub>50</sub>		7	28	39

### サンプル中の有機不純物の定量

イブuproフェンジェネリック錠のサンプルの定量を、3 種類のシステムすべてで実施して、分析法を移管した後同様の定量結果が得られる機能が実証されました。イブuproフェン錠の USP モノグラフは、イブuproフェン錠に含まれる有効成分の割合が表示量の 90.0% ~ 110.0% という許容範囲に収まっているかをモニターすると同時に、溶液中の分解

生成物もモニターするように設計されています<sup>3</sup>。分解生成物の濃度をモニターおよび報告する必要がありますが、その際、サンプル中の合計ピーク面積の 0.05% 未満のピークは無視されます。規制環境下で分析法の移管を行う場合、分解生成物の報告量が増加するとバッチの不合格につながる可能性があるため、これらの分解生成物の量がシステム間で一貫していることは非常に重要です。図 5 に、各システムで分析したイブプロフェン錠剤サンプルの代表的なクロマトグラムを示し、表 2 に溶液中の各ピークの濃度を報告しています。3 つの既知ピーク（イブプロフェン、類縁物質 J、類縁物質 C）および未知ピーク（特定されていない分解生成物）の濃度が、システム間で一貫しています。

---

## 結論

システムの可用性やラボの最新化により、確立された分析法を HPLC システムの間で移管する必要が生じることがよくあります。本研究では、イブプロフェンおよび有機不純物の分析に関して十分に試験済みの USP 分析法を、2 種類の古い HPLC システムと Alliance iS HPLC System で実行しました。Alliance iS HPLC System では、シグナル対ノイズ比を含むすべてのシステム適合性基準が満たされており、イブプロフェン錠剤のジェネリック製剤中の不純物のアッセイ純度および不純物の定量の両方で、両方の古いシステムと同等の定量結果が得られました。これらの結果は、Alliance iS HPLC System を使用することで、古い装置から分析法を簡単に移管でき、高い性能とラボの最新化が実現することを示しています。

## 参考文献

1. GUID-6C3DF8B8-D12E-4253-A0E7-6855670CDB7B\_6\_en-US; United States Pharmacopeia, 2022.
2. GUID-6C3DF8B8-D12E-4253-A0E7-6855670CDB7B\_1\_en-US; United States Pharmacopeia, 2017.
3. GUID-B108D32E-F28B-41A3-84C7-62D1C4F37646\_1\_en-US; United States Pharmacopeia, 2016.

---

## ソリューション提供製品

[Alliance iS HPLC System </nextgen/jp/ja/products/chromatography/chromatography-systems/alliance-is-hplc-system.html>](https://www.waters.com/nextgen/jp/ja/products/chromatography/chromatography-systems/alliance-is-hplc-system.html)

[2489 UV/Vis 検出器 <https://www.waters.com/515198>](https://www.waters.com/515198)

[Empower クロマトグラフィーデータシステム <https://www.waters.com/10190669>](https://www.waters.com/10190669)

720007866JA、2023 年 2 月



© 2023 Waters Corporation. All Rights Reserved.

[利用規約](#) [プライバシー](#) [商標](#) [キャリア](#) [クッキー](#) [クッキー環境設定](#)