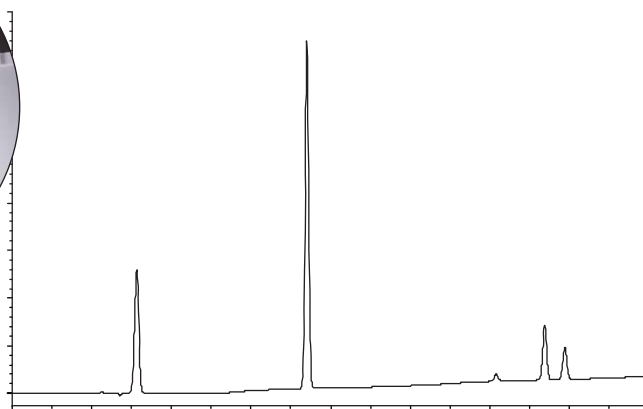


Agilent 1120 Compact LC を用いた アセトアミノフェン、ジクロフェナク、 イブプロフェンの同時測定用メソッドの 開発とバリデーション

アプリケーション

Angelika Gratzfeld-Huesgen
Patrik Hoerth
Daniel Thielsch



要約

Agilent 機器:

1120 Compact LC
EZChrom Elite Compact ソフトウェア
TC-C18(2) カラム

アプリケーション分野:

医薬品 QA/QC 分析

Agilent 1120 Compact LC は一般的な HPLC 分析に適しており、使いやすく高性能で、信頼性の高い一体型 LC です。保持時間とピーク面積の優れた再現性、そして高い検出感度により、医薬品分析に最適です。このアプリケーションノートでは、以下の内容を実証するデータを示します。

- %RSD 0.07 % 未満の優れた保持時間精度
- %RSD 1.0 % 未満の優れたピーク面積精度
- 相関係数 0.9999 超の優れた直線性
- 分析したすべての対象化合物に対して、検出下限 (LOD) 13 ~ 298 pg



Agilent Technologies

緒言

医薬品化合物の QA/QC における不純物のルーチン分析では、高性能、高精度で、堅牢な LC システムを使用することが重要です。Agilent 1120 Compact LC は、実績のある設計に基づいており、高品質のデータを提供します。医薬品化合物のルーチン QA/QC 分析に最適です。本研究では、数種類の医薬品化合物に対し、精度、直線性、検出下限 (LOD) を評価しました。

実験

機器

- Agilent 1120 Compact LC (デガッサを内蔵したグラジエントポンプ、バイアルトレイ付きオートサンプラ、可変波長 UV-Vis 検出器から構成、図 1 参照)
- Agilent TC-C18(2)、ハイカーボンロード、150 x 4.6 mm、粒径 5 μ m カラム
- Agilent EZChrom Elite Compact ソフトウェア

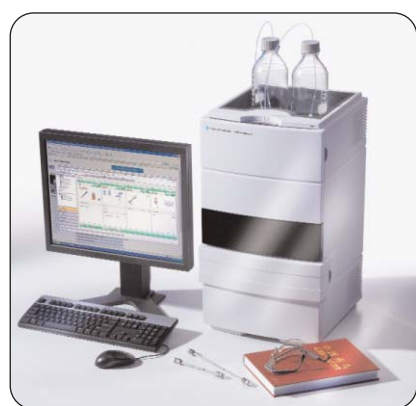


図 1
Agilent 1120 Compact LC

分析条件

- 移動相:
 - A: 水 + 0.05 % TFA
 - B: ACN + 0.045 % TFA
- グラジエント:
 - 0 分、25 %B;
 - 1 分、25 %B;
 - 4 分、60 %B;
 - 7 分、70 %B; 流量: 1.5 mL/min
- 注入量: 3 μ L
- カラム温度: 40 $^{\circ}$ C
- 検出波長: 230 nm
- ピーク幅: > 0.05 分
- 分析時間: 8 分
- ポストタイム: 2 分

結果と考察

精度、直線性、LOD を評価するために、アセトアミノフェン、イブプロフェン、ジクロフェナクを選択しました。内部標準 (ISTD) として安息香酸を使用しました。表 1 に使用した濃度を記載しています。

すべての化合物がベースライン分離されるように、分析条件を設定しました。アセトアミノフェンはほとんど保持されずに C-18 カラムから溶出するため、問題となりました。そのため、アセトアミノフェンがカラムに保持されるように、グラジエント

化合物	イブプロフェン ng/3 μ L	安息香酸 ng/3 μ L	アセトアミノフェン ng/3 μ L	ジクロフェナク ng/3 μ L
レベル 1	38.15	71.25	56.7	25.2
レベル 2	19.075	36.625	28.35	12.6
レベル 3	9.538	18.313	14.175	6.3
レベル 4	4.769	9.156	7.088	3.15
レベル 5	2.384	4.578	3.544	1.575
レベル 6	1.192	2.289	1.772	0.788
レベル 7	0.596	1.145	0.886	0.394

表 1
医薬品化合物と濃度レベル

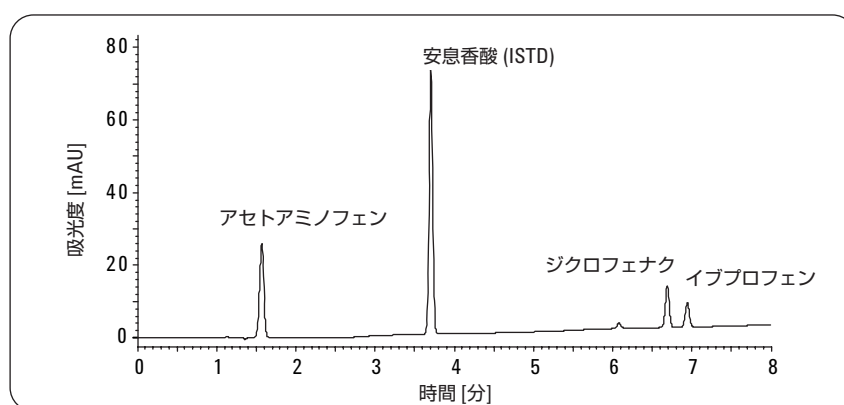


図 2
医薬品の分析。優れた分離を示しています。

の初期条件を選択しました。メソッド開発では、トータルの分析時間をできるだけ短くすることを目指しました。分析時間と平衡時間は 10 分で完了することができます (図 2)。移動相には、トリフルオロ酢酸を添加しました。これは、リテンションタイムとピーク形状の両方に良い影響を及ぼします。最初のグラジエントスロープは 4 分でしたが、1 番目と 2 番目のピークの間を短縮することができました。

精度

UV 検出を用いて医薬品を分析することは、保持時間の精度が最も重要であることを意味します。さらに、ピーク面積の精度は数 ng のレベルで 1 % 未満にする必要があります。レベル 2 の濃度を用いて、保持時間と面積の精度を測定しました。結果を図 3 と表 2 に示します。図 3 は、10 回の連続分析結果の重ね書きです。

検出下限

レベル 7 の濃度に対して得られたクロマトグラムに基づき、検出下限を計算しました。各化合物の検出下限を表 3 に示します。

直線性

レベル 1 ~ 7 の濃度を用いて、直線性をテストしました。例として、図 4 にアセトアミノフェンの直線性を示します。分析結果は、濃度範囲全体にわたり優れた直線性を示しました。表 4 に各化合物の検量線の相関係数を示します。

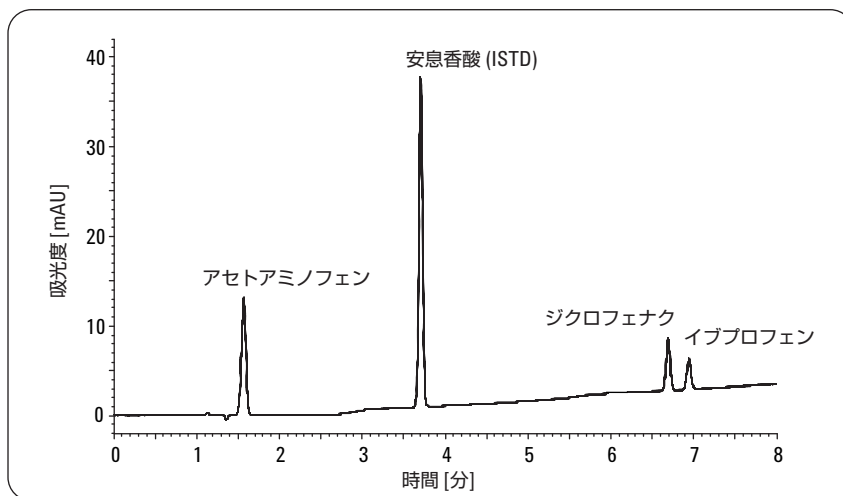


図 3 保持時間とピーク面積の精度。10 回連続分析の重ね書き

	% RSD 保持時間	% RSD ピーク面積	注入量 (3 μ L 注入)	計算された LOD (ng)
アセトアミノフェン	0.060	0.297	0.394	0.013
安息香酸	0.022	0.179	1.145	0.019
ジクロフェナク	0.020	0.807	0.394	0.197
イブプロフェン	0.016	0.962	0.596	0.298

表 2 レベル 2 の濃度での保持時間と面積の精度

表 3 検出下限

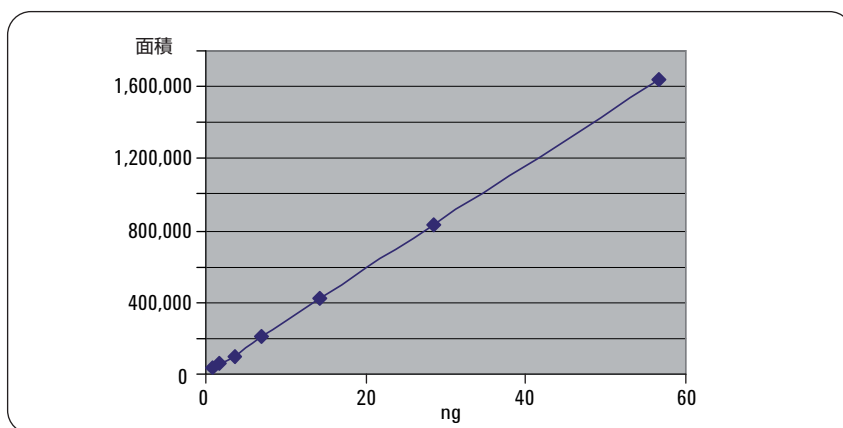


図 4 注入量 3 μ L あたり 0.886 ~ 56.7 ng のアセトアミノフェンの直線性

	相関係数
アセトアミノフェン	0.999966
安息香酸	0.999954
ジクロフェナク	0.999975
イブプロフェン	0.999910

表 4 相関係数

結論

Agilent 1120 Compact LC で、抗炎症剤の分析を行いました。良好な保持時間とピーク面積の再現性が得られ、保持時間の再現性は 0.07 % RSD 未満で、ベースライン分離されたピークの面積再現性は 1.0 % RSD 未満でした。検出下限は 13 ~ 298 pg でした。テストした濃度範囲にわたり優れた直線性を示し、検量線の相関係数は 0.999910 ~ 0.999975 でした。

Angelika Gratzfeld-Huesgen、Patrik Hoerth、Daniel Thielsch は、Agilent Technologies (ドイツ、Waldbronn) のアプリケーションケミストです。

www.agilent.com/chem/1120:jp

© 2007 Agilent Technologies Inc.

December 1, 2007
5989-7457JAJP



Agilent Technologies