

プラノプロフェンにおける不純物プロファイリングのための分離分析 Separation Analysis for Impurity Profiling in Pranoprofen

医薬品製造においては、製剤及び原薬の不純物プロファイルの把握が不可欠です。不純物プロファイルを確立するためには、不純物成分の分離挙動を理解することが、分析メソッドの構築において重要な要素となります。プラノプロフェンは抗炎症作用を有する医薬品有効成分であり、今回の検討では、プラノプロフェンに含まれる不純物を分離するための条件を検討しました。

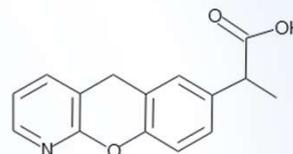
Key words : プラノプロフェン、不純物プロファイル、メソッド開発、頑健性、Pranoprofen
Column : USP category: L1

■ スカウティング

カラム及び溶離液について網羅的に測定を行い、分離度及びピーク検出数を確認しました。これらの結果から、ソフトウェアで自動計算された評価値を確認しました。評価値が高いほど、分離性能が優れている条件と判断できます。酸性移動相として酢酸及び酢酸を使用した場合、評価値は高い結果となりました。一方、酢酸アンモニウム、炭酸水素アンモニウムを用いた場合は、評価値が低下しました。(解析波長：215 nm)

[Analytical conditions]

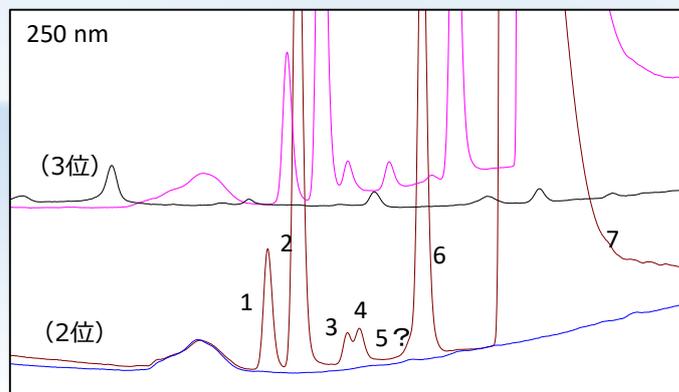
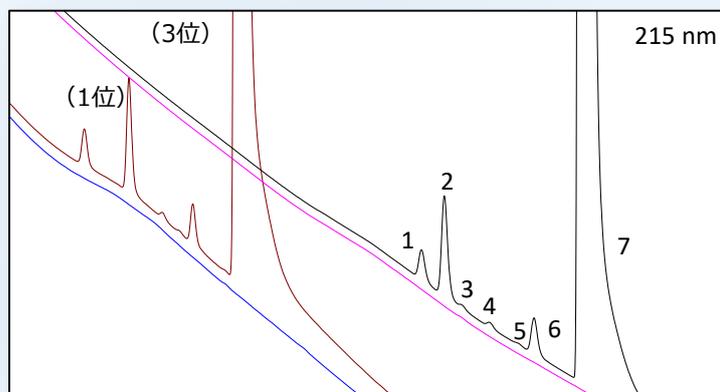
Column : *L-column2 ODS* (C18, 2 μ m, 12 nm); 2.1 mm I.D. \times 50 mm L.; Cat. No. 713140
L-column3 C18 (C18, 2 μ m, 12 nm); 2.1 mm I.D. \times 50 mm L.; Cat. No. 813140
Eluent : A: (a)CH₃CN, (b)CH₃OH; B: (a)10 mmol/L HCO₂H, (b)10 mmol/L CH₃CO₂H solution, (c)10 mmol/L NH₄CH₃CO₂ solution, (d)10 mmol/L NH₄HCO₂
A/B: 10/90 - 95/5 (0 min - 15 min)
Flow rate : 0.3 mL/min
Temperature : 40°C
Detection : 190 - 400 nm
Injection volume : 1 μ L
System : Nexera XR
Sample : 1 mg/mL in 50%CH₃CN



溶離液A	溶離液B	カラム	最小分離度	ピーク数	評価値
a	b	<i>L-column2</i>	2.62	8	222 (1位)
b	a	<i>L-column2</i>	0.96	7	158 (2位)
b	b	<i>L-column2</i>	1.06	7	152 (3位)
b	a	<i>L-column3</i>	1.31	7	146
b	b	<i>L-column3</i>	1.52	6	123
a	a	<i>L-column2</i>	2.98	6	120
a	b	<i>L-column3</i>	3.69	5	89
b	d	<i>L-column2</i>	1.29	5	70
b	c	<i>L-column3</i>	1.61	5	70
a	a	<i>L-column3</i>	2.75	5	68
b	d	<i>L-column3</i>	1.08	5	67
a	c	<i>L-column3</i>	1.13	6	64
a	d	<i>L-column3</i>	0.75	5	52
b	c	<i>L-column2</i>	1.82	4	38
a	c	<i>L-column2</i>	1.62	4	29
a	d	<i>L-column2</i>	0.77	4	25

2026.02 OGT

評価値1位の条件(L-column2、溶離液: アセトニトリル/酢酸)と、評価値3位の条件(L-column2、溶離液: メタノール/酢酸)をさらに解析しました。その結果、アセトニトリル条件ではブランクの影響により評価値が高くなっていました。一方、微小ピーク(No.3、4、5)の分離はメタノール条件の方が良好でした。しかし、検出波長215 nmではバックグラウンドの影響によりベースライン変動が大きく、ピークが埋もれる可能性があります。そこで、検出波長を250 nmに変更し、評価値2位の条件(L-column2、溶離液: メタノール/酢酸)と評価値3位の条件を比較しました。250 nmではバックグラウンドが低く、グラジエントによるベースライン変動も小さい結果となりました。また、評価値2位の条件は評価値3位の条件より分離性能は劣るものの、ブランクとピークポジションが重ならないため、評価値2位の条件を選定しました。なお、ピークNo.5についてはエリア面積が約0.001%と微小ですが、モニタリング対象としました。

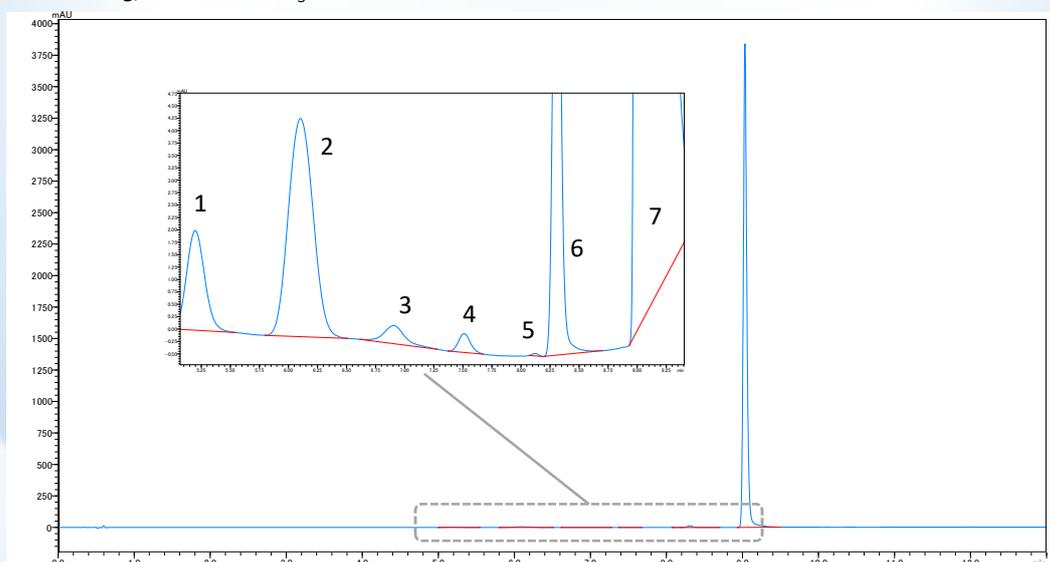


■ 最適化

スクリーニングで選定したカラム及び溶離液を用いて最適化を実施しました。初期条件で送液する時間を増やし、カラム温度25℃に設定することで最小分離度($R_{5,6}$) 1.5以上を達成しました。

[Analytical conditions]

Column : L-column2 ODS (C18, 2 μ m, 12 nm); 2.1 mm I.D. \times 50 mm L.; Cat. No. 713140
 Eluent : A:CH₃OH; B: 10 mmol/L HCO₂H
 A/B: 35/65 - 35/65 - 90/10 - 90/10 (0 min - 5 min - 11 min - 13 min)
 Flow rate : 0.3 mL/min
 Temperature : 25°C
 Detection : 250 nm
 Injection volume : 2 μ L
 System : Nexera XR+LCMS-2050
 Sample : 1 mg/mL in 50% CH₃CN

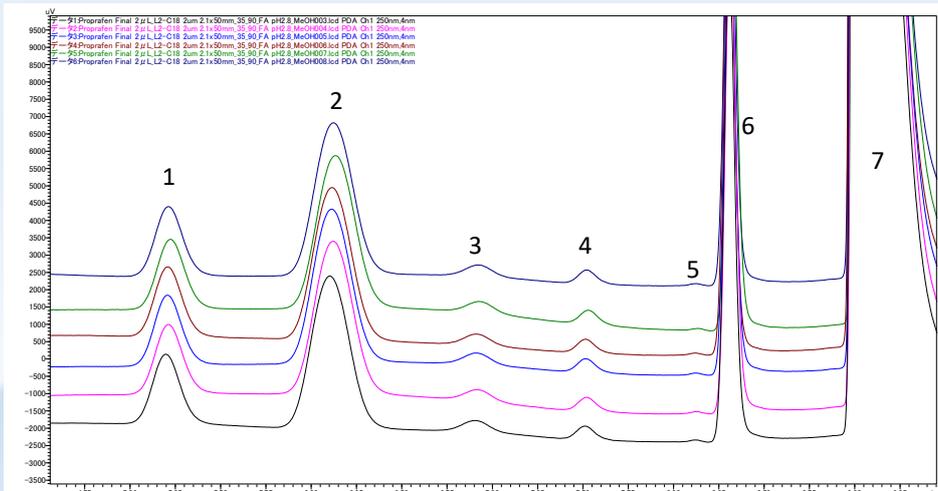


ピーク#	保持時間	面積	高さ	面積%	シンメトリ係数	分離度(JP)
1	5.197	21763	2011	0.173	1.13	--
2	6.104	64738	4398	0.516	1.06	2.65
3	6.915	4616	367	0.037	1.08	2.30
4	7.512	2736	381	0.022	1.13	2.41
5	8.120	183	50	0.001	1.16	4.22
6	8.307	61805	13998	0.493	1.13	1.75
7	9.032	12393035	3840448	98.758	1.20	7.54
合計		12548876	3861651	100		

2026.02 OGT

■ 再現性の確認

最適化した条件で6回の分析を実施し、再現性を評価しました。ブナプロフェン(ピークNo.7)について、保持時間及び面積などのパラメータにおいて再現性が確認されました。

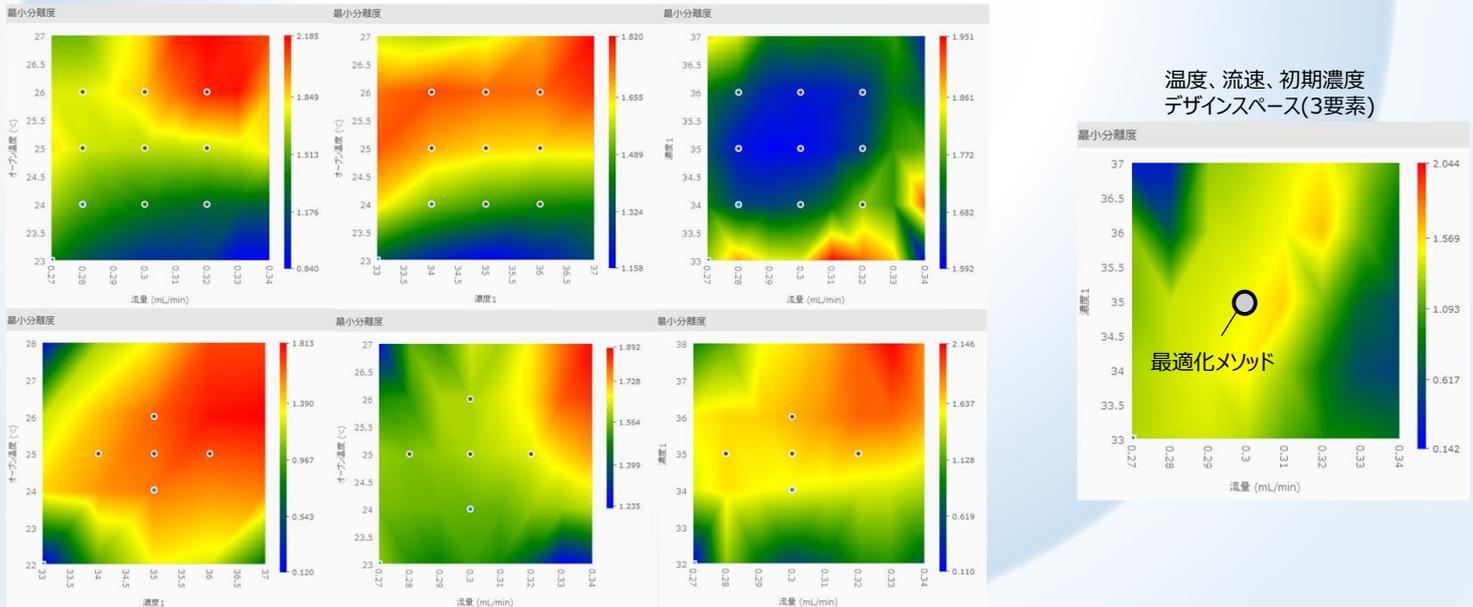


ピーク#	保持時間	面積	高さ	面積%	シンメトリ係数	分離度(JP)
7	9.032	12393035	3840448	98.76	1.20	7.54
7	9.037	12502458	3854474	98.75	1.20	7.52
7	9.035	12513039	3853379	98.75	1.17	7.52
7	9.029	12456742	3850079	98.77	1.18	7.51
7	9.043	12492427	3858153	98.75	1.16	7.52
7	9.029	12473905	3850651	98.75	1.20	7.48
平均	9.034	12471934	3851197	98.75	1.18	7.51
SD	0.005	39793	5492	0.006	0.014	0.016
RSD%	0.05%	0.32%	0.14%	0.01%	1.16%	0.22%

■ 頑健性の確認

温度、流速、初期濃度を微小に変化させ、最小分離度($R_{5,6}$)の変化を確認しました。

シミュレーションを2パターンで実施した結果、流量と初期濃度の微小変化は分離に大きな影響を与えないことが確認されました。一方、温度は低下すると分離度が低下し、逆にわずかに上昇すると分離度が改善する傾向が見られました。3要素を組合せたデザインスペースの結果から、構築メソッドの頑健性を確認しました。分析メソッドを構築する際には、どの条件が分離に影響を及ぼすかを把握することで、より堅牢な分析メソッドの構築が可能となります。



- HPLC分析メソッド開発支援：長年の分析経験に基づいた高い技術で、HPLC分析メソッドを開発及び改善します。
 - HPLCによる分取・精製：高精度な分離条件に基づく分取・精製を行います。
- その他、精製品に対する構造推定(Q-ToF-MS、NMR、FT-IR)、推定構造による毒性評価、作成したHPLCメソッドによるGLP試験など、お気軽にご相談ください。

2026.02 OGT