

## コアシェル型充てん剤を用いた UHPLC 法によるジルチアゼムと その関連物質並びにパラベンの一斉迅速分析法の開発

永松 久実・西 博行

Fast Simultaneous Separation of Diltiazem and its Related Compounds  
and Parabens by UHPLC with Core-Shell Type Packing Materials

Kumi NAGAMATSU and Hiroyuki NISHI

### 1. はじめに

近年、分析業務の効率化や生産性の向上を目的とした、分析のハイスループット化が進展している。HPLC 分析では、従来汎用されている充てん剤粒子 (5  $\mu\text{m}$ ) より、更に粒子径が小さな (2~3  $\mu\text{m}$ ) 充てん剤を用いる超高速分析技術：UHPLC 法が開発されている<sup>1)</sup>。薬学部専門実習のうち、薬品分析化学実習 2 で行う HPLC 法については、前報で UHPLC 法への移管を検討し、最適化を図ることで迅速 (2~3 分) かつ高性能な分離 (理論段高さ 10  $\mu\text{m}$  以下) が達成できることを報告した<sup>2)</sup>。しかし、充てん剤の微粒子化は、高性能化により分析時間の短縮化が図れる反面、カラムの圧損が急激に大きくなる。従来の HPLC 法では、通常分析サイズのカラムを標準的な試験条件で用いた場合は、圧損は 100  $\text{kg}/\text{cm}^2$  以下であるが、2.2  $\mu\text{m}$  充てん剤 (5 cm カラム, カラム温度 40°C) で、流速 0.7  $\text{mL}/\text{min}$ , 移動相メタノール 70% では、200  $\text{kg}/\text{cm}^2$  を超える<sup>2)</sup>。カラム、分析装置での圧損は、カラム寿命や機器の保守上も低い方が有利である。

そこで、新たにコアシェル型充てん剤が注目されている。このタイプの充てん剤では、非多孔質シリカゲルの表面に多孔質シリカゲル層を被覆させる。見かけ上の粒子径は大きいため、カラム背圧を抑えることができるという特長を有しており、UHPLC 法の登場とともに改めて見直されている。コアシェル構造の模式図と写真、また、計測値を図 1 に示す<sup>3)</sup>。このタイプの充てん剤は、実は既に 1969 年 Kirkland により発表されている<sup>4)</sup>。直径 30  $\mu\text{m}$  の核の表面に約 0.5  $\mu\text{m}$  の多孔質層が存在するシリカで、当時ペリキュラー型シリカと呼ばれていたものだが、このシリカでは試料負荷量や理論段数が高くなかったため実用に用いられることはほとんどなかった。その後、同グループは、2000 年、また 2007 年に中心核 (コア) の直径を小さくし、分離性能と試料負荷量での欠点を克服したものを開発し、報告した<sup>5,6)</sup>。日本でも 2010 年末ごろからようやく複数の市販品が利用できるようになり、幾つかの比較検討の報告もされている<sup>7,8)</sup>。

本研究では、分析時間の短縮、移動相溶媒量の削減、また、高感度化を目的に、コアシェル型充てん剤を採用し、パラベン類を用いて性能の評価を検討した。ジルチアゼム、そのクロロ誘導体 (クロロジルチアゼム)、更に、これらの不純物かつ分解物であるそれぞれの脱アセチル体を対象に、一斉迅速分析法の開発を検討した。また実試料 (原薬・製剤) の純度試験への応用も検討したのであわせて報告する。

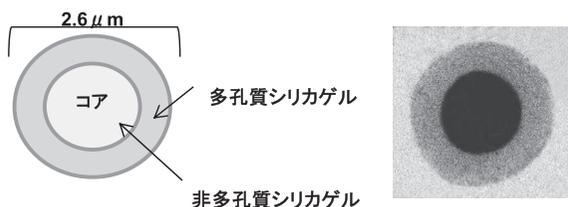


図1 コアシェル型充てん剤の構造 (左: 模式図, 右: 電子顕微鏡写真)  
 粒子径 (全体): 2.6  $\mu\text{m}$ , コア径: 1.6  $\mu\text{m}$ , 多孔質層の厚さ: 0.5  $\mu\text{m}$

## 2. 実験方法

### 2.1 試薬および試料

*p*-ヒドロキシ安息香酸メチル (メチルパラベン, MeP), *p*-ヒドロキシ安息香酸エチル (エチルパラベン, EtP), *p*-ヒドロキシ安息香酸プロピル (プロピルパラベン, PrP), *p*-ヒドロキシ安息香酸イソプロピル (イソプロピルパラベン, iPrP), *p*-ヒドロキシ安息香酸ブチル (ブチルパラベン, BuP), ボイドポリウム ( $t_0$ ) のマーカー物質としてウラシル (U), 緩衝液調製用に用いたリン酸 (85%) 及びリン酸二水素カリウム, また, 塩酸は, すべて和光純薬工業(株) (大阪) の試薬特級を購入し, 使用した。メタノール (MeOH) は HPLC 用を和光純薬から購入し, 使用した。水は ElixUV 純水製造装置 (日本ミリポア社) を用いて精製したものをを用い, 緩衝液の pH は, メトラートレド社製セブンイージを用いて調整した。

ジルチアゼム塩酸塩 (DIL), クロロジルチアゼムマレイン酸塩 (CIL) 及び DIL と CIL の主不純物かつ分解物であるそれぞれの脱アセチル体 (DIL-OH 及び CIL-OH) については, 田辺三菱製薬(株) から供与されたものをそのまま用いた。これらの化学構造式を図 2 に示す。純度試験に供した DIL 原薬 3 ロット, DIL 製剤 (ヘルベッサ) 3 ロットも田辺三菱製薬(株) から供与されたものをそのまま用いた。ジルチアゼム (ヘルベッサ錠) は, 現在世界 100 ヶ国以上で狭心症, 高血圧症薬として臨床に供されている<sup>9)</sup>。

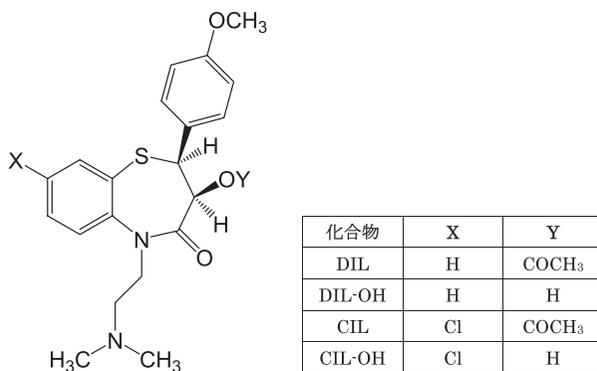


図2 検討に用いたジルチアゼム及び関連化合物の化学構造式  
 (ただし, DIL は塩酸塩, CIL はマレイン酸塩)

パラベンの分離の検討に用いた混合試料溶液は、以下のように調製した。各パラベン及びウラシル 100 mg をとり、MeOH に溶かしそれぞれ 100 mL とし、各パラベンの原液とした。この原液それぞれ 5 mL をとり、水を加えて 50 mL とし、パラベン混合液（ウラシルを含む）を調製した。ジルチアゼム類の分離の検討に用いた混合試料溶液は、DIL, DIL-OH, CIL, CIL-OH それぞれ 15 mg を量り、メタノールを加えて溶かし、50 mL 溶液とする。DIL 及び CIL はそれぞれ 2 mL, DIL-OH 及び CIL-OH はそれぞれ 1 mL をとり、水を加えて 20 mL とし、ジルチアゼム類の混合試料溶液とした。

## 2.2 装置及びカラム

装置は(株)島津製作所(京都)の Prominence 装置一式(UHPLC 対応)を使用した。ポンプは LC-20AB (耐圧上限 40 MPa, 約 400 kg/cm<sup>2</sup>), オートインジェクターは SIL-20AC を用い、多波長検出器として SPD-M20A, システムコントローラは CBM-20A, カラムオープンは CTO-20A を、また、デガッサー DGU-20A3 を使用した。なお、クロマトグラムのモニターは、波長 254 nm 及び 210 nm で行い、カラムオープンは原則、40°C 一定温度とした。流速も原則、1.0 mL/min とした。

なお、UHPLC の性能を発揮させるためにカラム直後の配管は内径 0.1 mm のものを用いたが、検出器のセルは通常の 10  $\mu$ L のものを使用し、スリット幅は 8 nm (他に 1.2 nm 選択可能) とした。検出器の時定数(レスポンス)及びサンプリングタイムは、初期設定値(640 ms)から 80 ms とした。

コアシェル型の UHPLC 用カラムとしては、(株)島津製作所(京都)から購入した Kinetex C18 (2.6  $\mu$ m, 4.6 mm i.d.  $\times$  10 cm) 及びクロマニックテクノロジー社から購入した Sunshell C18 (2.6  $\mu$ m, 4.6 mm i.d.  $\times$  10 cm) を使用した。ピークの理論段数  $N$ , 理論段高さ  $H$  及び分離度  $R_s$  は、(株)島津製作所(京都)の Prominence 装置一式に搭載されているデータ解析ソフトを用いて計算した。移動相は、0.05 mol/L リン酸塩緩衝液(pH 3.0)と MeOH あるいは水との混液を用い、使用前にメンブレンフィルターでろ過し、分析に供した。また、比較のため、全多孔性シリカの UHPLC 用カラムとして(株)島津製作所の Shim-pack XR-ODS (2.2  $\mu$ m, 3.0 mm i.d.  $\times$  5 cm), コンベンショナルな HPLC 用カラムとして、Phenomenex Gemini NX5u C18 (5  $\mu$ m, 4.6 mm i.d.  $\times$  15 cm) を使用した。

## 2.3 ジルチアゼム原薬及びその製剤(ヘルベッサ錠60)の純度試験

ジルチアゼム塩酸塩(乾燥済み)約 30 mg を量り、移動相を加えて溶かし、正確に 100 mL とし原薬の試料溶液とする。製剤(ヘルベッサ錠60: 1錠に 60 mg の DIL を含む)の場合は、本品 1 個をとり、200 mL のメスフラスコに入れ、移動相 150 mL を加え、超音波処理により混合し、錠剤を完全に崩壊させる。更に移動相を加えて正確に 200 mL とし、よく振り混ぜ、ろ過する。初めのろ液 20 mL を除き、次のろ液を製剤の試料溶液とする。あるいは、本品 20 個以上をとり、その質量を精密に量り、粉末とする。表示量に従い、ジルチアゼム塩酸塩約 30 mg に対応する量を精密に量り、移動相 70 mL を加え、超音波処理により混合させる。更に移動相を加えて正確に 100 mL とし、よく振り混ぜ、ろ過する。初めのろ液 10 mL を除き、次のろ液を製剤の試料溶液とする。それぞれの試料溶液 10  $\mu$ L につき、次の条件で液体クロマトグラフィー<2.01>により試験を行い、各々のピーク面積を自動積分法により測定し、面積百分率により、不純物ピー

クの量を計算する。

#### 操作条件

検出波長：UV 254 nm

カラム：Kinetex C18 (2.6  $\mu\text{m}$ , 4.6 mm i.d.  $\times$  10 cm) あるいは Sunshell C18 (2.6  $\mu\text{m}$ , 4.6 mm i.d.  $\times$  10 cm)

カラム温度：40°C

移動相：MeOH/0.05 mol/L リン酸塩緩衝液 (pH 3.0) 混液 (13 : 7)

流量：1.0 mL/min

### 3. 結果及び考察

#### 3.1 パラベン (*p*-ヒドロキシ安息香酸エステル) 混合物の分離

パラベン混合物は、中性化合物で安息香酸エステル部位の置換基がメチル基 1 つ違いのものや枝分かれのものが利用できるため、従来から逆相 HPLC カラムの性能評価によく利用される。まず、コアシェル型カラム 2 種類の性能を評価するため、パラベン 5 種類の混合試料溶液の分離について、移動相 (MeOH : 水の混液) 中の MeOH 含有量を 60%、65% 及び 70% として検討した。

Kinetex C18 カラムでの分離結果を図 3 に示す。最も近接して溶出する iPrP と PrP とが MeOH70% では一部重複したが、ピークバレー比 (日本薬局方・一般試験法・液体クロマトグラフィ <2.01>) は 6.0 であり、一定の分離が 2 分以内で達成されている。Sunshell C18 カラムでもほぼ同等の結果が得られたが、保持が Kinetex C18 カラムよりも若干強かった (MeOH60% での BuP の保持時間 ( $t_R$ ) は、前者 4.49 min に対し、後者 3.90 min)。両カラムでの MeOH60% における各種パラベンの分析結果を比較して表 1 に示す。溶出順は、保持しない U の後に、疎水性の順で MeP, EtP, iPrP, PrP, BuP となった。

最も遅く溶出する BuP で理論段数は 15400 (10 cm カラム)、理論段高さは 6.5  $\mu\text{m}$  と極めて高いカラム性能が得られた。また、流速 1.0 mL/min, 40°C でコアシェル型カラムの圧損は約 200 kg/cm<sup>2</sup> 前後と低い値を与えた。なお、従来の 5  $\mu\text{m}$  充てん剤, 15 cm カラムで、移動相

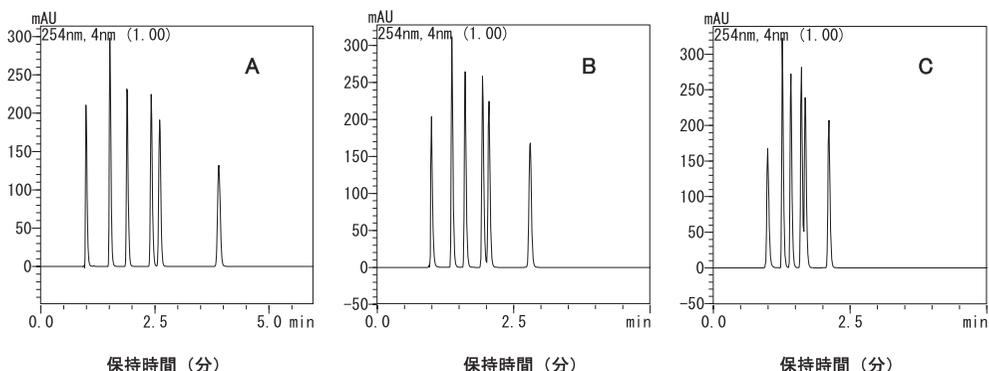


図3 コアシェル型カラム (Kinetex C18 (2.6  $\mu\text{m}$ , 10 cm)) によるパラベン混合物の分離 (A : MeOH60%, B : MeOH65%, C : MeOH70%)

表1 2種類のコアシェル型カラムのパラベン類分離での結果 (移動相: MeOH60%)

	Kinetex C18			Sunshell C18				
	$t_R$ (min)	$N$	$H$ ( $\mu\text{m}$ )	PD ( $\text{kg}/\text{cm}^2$ )	$t_R$ (min)	$N$	$H$ ( $\mu\text{m}$ )	PD ( $\text{kg}/\text{cm}^2$ )
U ( $t_0$ )	0.988	3670	27.2	226	0.925	2590	38.6	184
MeP	1.511	7070	14.1		1.466	4900	20.4	
EtP	1.888	8910	11.2		1.905	7610	13.1	
iPrP	2.417	11740	8.52		2.558	9540	10.5	
PrP	2.600	11940	8.38		2.789	9940	10.1	
BuP	3.895	15420	6.49		4.494	13710	7.29	

MeOH70%を用いてパラベンを分離した場合、iPrP と PrP とのピークバレー比は5.0であり、分離に4分を要した<sup>2)</sup>。

### 3.2 コアシェル型カラムの性能

従来の5  $\mu\text{m}$  粒子の充填剤 (4.6 mm  $\times$  15 cm カラム) を、上記と同じ MeOH60% (カラム温度40°C, 流量 1.0 mL/min) で用いるとカラム背圧は 75  $\text{kg}/\text{cm}^2$  であったのに対し、全多孔性の微粒子 UHPLC 用充填剤 (2.2  $\mu\text{m}$ , 3 mm  $\times$  5 cm カラム) を同条件で用いると、カラム長さが短いにも関わらず、275  $\text{kg}/\text{cm}^2$  と高い圧損を示した。一方、コアシェル型カラム (2.6  $\mu\text{m}$ , 4.6 mm  $\times$  10 cm カラム) では、約 200  $\text{kg}/\text{cm}^2$  前後と低い圧損であった。これは、カラムの圧損が充填剤粒子の全粒子径に依存することから説明できる。2  $\mu\text{m}$  と 3  $\mu\text{m}$  で大きく違った。上記の結果はカラム温度40°Cでの結果であるが、50°Cとすると 275  $\text{kg}/\text{cm}^2$  は 230  $\text{kg}/\text{cm}^2$ , 186  $\text{kg}/\text{cm}^2$  は 155  $\text{kg}/\text{cm}^2$  とかなり低減化できた。微粒子充填剤を用いる場合は、カラム温度は通常よく用いられる40°C にこだわることなく、50°C を用いても良いものと思われる。

図4に、従来カラム (5  $\mu\text{m}$ , 15 cm カラム) 及び全多孔性の UHPLC カラム (2.2  $\mu\text{m}$ , 5 cm カラム) で、移動相 MeOH60%を用いてパラベンを分離したときのクロマトグラムを示す。コア

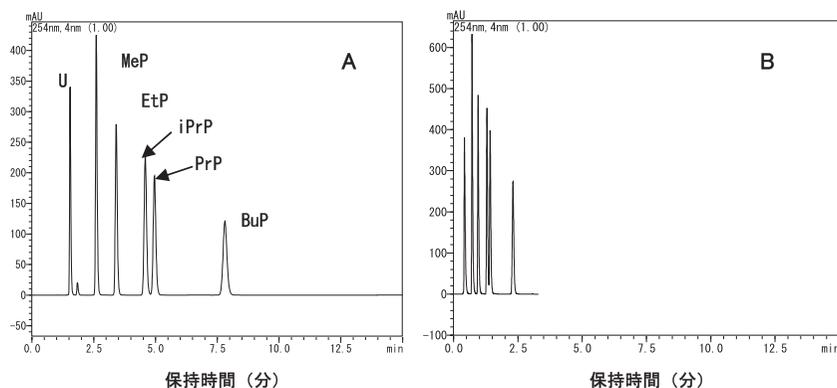


図4 従来カラム (5  $\mu\text{m}$ , 15 cm, A) 及び全多孔性 UHPLC カラム (2.2  $\mu\text{m}$ , 5 cm, B) によるパラベン混合物の分離 (移動相: MeOH60%)

シェル型カラム (2.6  $\mu\text{m}$ , 10 cm カラム) で MeOH65% を用いた時の分離 (図 3B) 等と比較すると、従来カラムと同等の分離が 1/2 以下の分析時間で、また、全多孔性の UHPLC カラム (2.2  $\mu\text{m}$ , 5 cm カラム) と同等の分離が同じ分析時間 (約 2.5 分) で、コアシェル型カラムでは達成されている。

これは以下のカラムの性能 ( $H$ : 理論段高さ) と移動相の流速 ( $u$ : 線流速) との関係式: van Deemter の式 (1) の  $A$  項及び  $C$  項の寄与によるものと考えられる<sup>10)</sup>。この式で  $A$  項はうず流拡散で  $A = 2\lambda dp$  ( $\lambda$ : 曲がりくねり係数,  $dp$ : 充てん剤の粒子径) と表され,  $B$  項はカラム軸 (縦軸) 方向への拡散で ( $Dm$ : 移動相中での拡散係数),  $C$  項は移動相と固定相間での物質移動における分配平衡の遅れの寄与を示す。  $C = C_{sm} \cdot dp^2 / Dm + C_s \cdot df^2 / Ds$  ( $C_{sm}$ ,  $C_s$ : 係数,  $Ds$ : 固定相中での拡散係数,  $df$ : 固定相 (液体) の厚さ) である。

$$H = A + B/u + C u \text{ ----- (1)}$$

$A$  項では、形のそろった粒子径  $dp$  が小さい充てん剤が最密充てんされるほどその  $H$  への寄与が小さくなる。 $B$  項は流速  $u$  が大きいほど、小さい理論段高さ  $H$  (高い理論段数  $N$ ) が得られることがわかる。また、 $C$  項については、粒子径  $dp$  と固定相厚さ  $df$  及び流速  $u$  が小さいほど有利である。流速を最適条件下で用いることは実際的ではないので、充てん剤の粒子径を小さくすることで高性能のカラムを目指すことが行われ、全孔性シリカでサブ 2  $\mu\text{m}$  程度の充てん剤が UHPLC 用として開発・市販された<sup>11)</sup>。しかし、上述のようにカラム背圧が通常の使用条件で 300  $\text{kg}/\text{cm}^2$  と大きい。これに対し、コアシェル型の充てん剤では、従来の 5  $\mu\text{m}$  と比較し、 $A$  項では  $dp$  が小さいことのほか、粒子径のそろったものが製造できることが大きく寄与していると考えられる。また、 $C$  項は、粒子径の 2 乗に比例し、また、固定相の厚さ  $df$  が 0.5  $\mu\text{m}$  であることから極めて値が小さくなるものと考えられる。

以上、コアシェル型カラムでは、比較的低いカラム圧損で、全多孔性シリカの UHPLC カラム (2.2  $\mu\text{m}$ , 5 cm カラム) と同等の分離が同じ分析時間 (約 2.5 分以内) で達成された。

### 3.3 ジルチアゼム類の分離

医薬品分析への応用として、ジルチアゼムを対象に検討を行った。まず、ジルチアゼム及びその 8 位にクロロ基が導入されたクロロジルチアゼム、更にこれらの主不純物かつ分解物である脱アセチル体につき、濃度を活性体: 分解物 = 2 : 1 とした混合溶液を調製し、分離を検討した。Sunshell C18 カラムを用い、移動相の MeOH 含量を 60%、65% 及び 70% としたときの分離クロマトグラムを図 5 に示す。溶出順は、DIL-OH, DIL, CIL-OH, CIL である。最も近接して溶出した DIL とその脱アセチル体 DIL-OH は MeOH70% では、ピークバレー比 5.1 でピークの裾が少し重なったが、1.2 分以内に分離された。MeOH65% とすると 1.4 分以内でベースライン分離が達成された。Kinetex C18 カラムでも同等の分離が得られたが、若干、カラムの理論段数が Sunshell C18 カラムよりもよい結果となった。

なお、カラムの理論段数については、両カラムの履歴 (使用期間が Sunshell C18 カラムが長い) によることも考えられ、厳密な比較はできない。また、ジルチアゼム類はピークが幅広く、理論段数は同じ保持時間の電氣的に中性であるパラベン化合物と比較して低い値となった。これは、ジルチアゼム類がベンゾチアゼピン構造、ジメチルアミノエチル基を有している塩基性化合物で

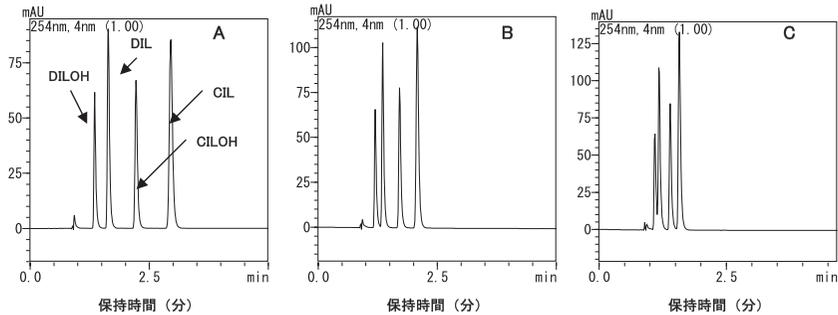


図5 Sunshell C18によるジルチアゼム類4化合物の一斉分離  
(A: MeOH60%, B: MeOH65%, C: MeOH70%)

あるため、固定相への吸着等によりブロードになったものと考えられる。Kinetex C18 カラム、MeOH60%でジルチアゼム類4化合物の各ピークの理論段数は6200~9700段であった。

### 3.4 ジルチアゼム原薬及び製剤の純度試験

Ca チャンネルブロッカーであるヘルベッサー（ジルチアゼム）の純度試験に、コアシェル型カラムによる UHPLC 法を適用するため、上記の検討結果から DIL-OH と DIL がベースライン分離されている MeOH65%を選択した。本移動相条件で Sunshell C18 カラムを用い、カラム温度40°C、流速 1.0 mL/min で、DIL 原薬及びその製剤であるヘルベッサー錠、各々3ロットを分析した。結果を表2にまとめて示す。また、その時のクロマトグラム例を、DIL と CIL の原薬を混合して調製した溶液を分析したクロマトグラムと合わせて図6に示す。DIL の純度試験が100秒（1.6分）以内で達成されている。なお、図6Aでは、0.6%のDIL-OH体、0.8%のCIL-OHが分離検出されたが、これは分離検討用として用いた溶液が、調製後の時間経過により、分解が進んだためである。

結果を見ると不純物としては脱アセチル体 DIL-OH のみが検出され、その値は原薬で0.18~0.28%、製剤で0.29~0.42%であった。なお、これら製剤と原薬とのロット間に関連はない。原薬を製剤化する過程で若干の分解が起こるため、また、保存期間における分解速度は製剤の方が大きいため、一般的に不純物の割合は製剤の方が大きくなるが、妥当な結果が得られた。これら医薬品の不純物規格値は、実製造スケールで製造されたロット（3ロット以上）での実測値、また、これらの安定性試験実施後の結果等を踏まえて設定されるが<sup>12)</sup>、一般的には、原薬で0.5%、製剤では1.0%ないし2.0%程度の値が設定されることが多い。

表2 DIL 原薬及び DIL 製剤の純度試験の結果

原 薬		製 剤	
ロット	不純物 (%)	ロット	不純物 (%)
A	1個 0.28%	1	1個 0.29%
B	1個 0.19%	2	1個 0.42%
C	1個 0.18%	3	1個 0.38%

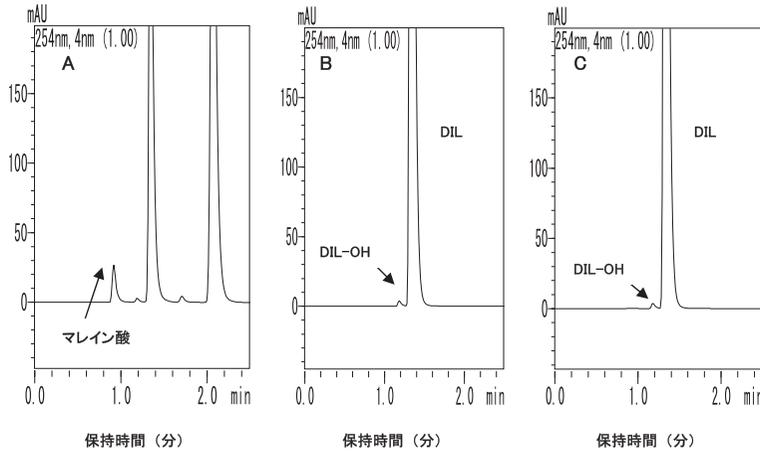


図6 DILの純度試験, 原薬, 製剤

(A: DIL及びCILの混合溶液, B: DIL原薬, C: DIL製剤)

厳密には、プラセボ末を用いて分析法バリデーションデータを取得し、バリデートした試験法により測定を行わなければならないが、本結果より、試験に供した原薬及び製剤とも製造後5年以上経過（ビン密栓、室温保管）したものであったが分解は少なく、ヘルベッサーは極めて安定性に優れている医薬品と言えよう。ちなみに、ジルチアゼム塩酸塩（原薬）は、日本薬局方（日局）に記載されており、C18カラムを用いる逆相HPLC法による総類縁物質の許容量は、0.3%となっている<sup>13)</sup>。今回試験を行った原薬は、3ロットとも規格に適合した。日局では、5 $\mu$ mの充てん剤カラム（サイズ：4.6 mm $\times$ 15 cm）を50 $^{\circ}$ Cで使用するように規定されている。

#### 4. ま と め

パラベン分離につき3種類のカラムを検討した。その結果、コアシェル型カラム（2.6 $\mu$ m, 10 cmカラム）により、従来カラム（5 $\mu$ m, 15 cmカラム）と同等の分離が1/2以下の分析時間で、全多孔性シリカのUHPLCカラム（2.2 $\mu$ m, 5 cmカラム）と同等の分離が同じ分析時間（2.5分以下）で、かつ低いカラム背圧で達成されることが分かった。また、2種類のコアシェル型カラムを用いたパラベン分離においては、カラムの性能を示す理論段数で15,000段、理論段高さで6.5 $\mu$ mと、UHPLC用としての最適化を全て行っていない（例えば検出器のセル容量など）にもかかわらず、極めてよい性能が示された。実際にジルチアゼム類の分離に応用したところ、主たる不純物かつ分解物である脱アセチル体との分離が100秒以内で達成され、迅速な類縁物質試験（純度試験）が実施可能であることが分かった。

以上のように、コアシェル型カラムでは、2 $\mu$ m全多孔性UHPLCカラムと同等の性能が、比較的低いカラム背圧で達せられるなど、今後の分析のハイスループット化に適した手法として汎用されるものと思われる。

現在、総合感冒薬に用いられる医薬品やイブプロフェンをはじめとする非ステロイド系抗炎症薬（NSAIDs）のコアシェル型カラムを用いた迅速一斉分析法の検討を行っている。それぞれの迅速分析法と実製剤であるイブ錠及びセデス錠に含まれている有効成分の定量についての検討結

果は、別に報告したので参照いただきたい<sup>14)</sup>。

## 謝 辞

本実験を実施するにあたり、UHPLC カラム Shim-pack XR-ODS を供与頂きました(株)島津製作所(三上博久氏)に感謝いたします。また、本研究の一部は平成23年度科学研究費補助金基盤研究(C)「CE法を中心としたマイクロ分析系による医薬品の品質物性の高速精密評価」(研究代表:西博行, 課題番号23550110)の助成を受けたものである。

## 引用文献

- 1) Waters, ACQUITY UPLC (2004), Shimadzu, Prominence UFLC (2006) など。
- 2) 永松久実, 西村基弘, 西博行, 安田女子大学紀要, 第40号, 403-411 (2012)。
- 3) a) 「SunShell」HPLC column カタログ, (株)クロマニックテクノロジーズ (2011), または b) 日本薬学会第132年会「新技術・新製品セミナー資料集」(2012)。
- 4) J. J. Kirkland: High-speed liquid chromatography with controlled-surface-porosity supports, *J. Chromatogr. Sci.*, 7, 7-12 (1969)。
- 5) J. J. Kirkland, F. A. Truszkowski, C. H. Dilks, G. S. Engel: Superficially porous silica microspheres for the fast high-performance liquid chromatography of macromolecules, *J. Chromatogr. A*, 890, 3-13 (2000)。
- 6) J. J. Kirkland, T. J. Langlois, J. J. DeStefano: Fused core particle for HPLC columns, *Am. Lab.*, 39, 18-21 (2007)。
- 7) C. Sanchez, T. Farkas: The latest trend in LC analysis, *Am. Lab.*, 44, 11-14 (2012)。
- 8) J. Wang, W. Chow, W. Cheung: On the use of Kinetex-C18 core-shell 2.6  $\mu\text{m}$  stationary phase to the multi-class determination of antibiotics, *J. Agricul. & Food Chem.*, 59, 8589-8608 (2011)。
- 9) 田辺三菱製薬(株), ヘルベッサー錠60 インタビューフォーム (第8版A), p. 43 (2009)。
- 10) a) L. R. Snyder, J. J. Kirkland, Introduction to Modern Liquid Chromatography, 2<sup>nd</sup> Ed., John Wiley & Sons, Inc., pp. 15-32 (1979), b) 津田孝雄, 「クロマトグラフィー—分離のしくみと応用—」, 丸善(株), pp. 51-67 (1989)。
- 11) a) Waters 社, ACQUITY UPLC BEH C18, 1.7  $\mu\text{m}$ , b) YMC 社, Triart C18, 1.9  $\mu\text{m}$ , c) Agilent 社, ZORBAX SB-C18, 1.8  $\mu\text{m}$  など。
- 12) a) 医薬審発第568号 (H13. 5. 1), b) 医薬品製造販売指針2010, (株)じほう, pp. 108-124 (2010), c) 第十七改正日本薬局方原案作成要領, *JP Forum*, 21, 27-69 (2012)。
- 13) 第十六改正日本薬局方, 厚生労働省, pp. 732-733 (2011)。
- 14) 永松久実, 森田智香子, 西博行, 「コアシェル型充てん剤を用いた UHPLC 法による感冒薬類及び抗炎症薬の一斉迅速定量法の開発」, 第25回バイオメディカル分析科学シンポジウム (東京), 講演要旨集 (P34) pp. 246-247, (2012)。

## Summary

Recently UHPLC, where smaller particle (2~3  $\mu\text{m}$ ) packing materials are employed, is progressing rapidly. Higher performance (higher theoretical plate number, lower theoretical plate height) and fast analysis can be obtained by the UHPLC, compared with the conventional HPLC with the usual size packing materials (5  $\mu\text{m}$ ). In this study, core-shell type packing materials (particle size: 2.6  $\mu\text{m}$ , column length: 10 cm) are used for the separation of five paraben mixtures first. The same separation performance as in the usual columns (particle size: 5  $\mu\text{m}$ , 15 cm

length) was obtained by the core-shell type columns (2.6  $\mu\text{m}$ , 10 cm) with a half analysis time. The same separation performance as in the UHPLC with 2.2  $\mu\text{m}$ , 5 cm column was obtained by the core-shell type columns with the same analysis time (not more than 2.5 min) and a lower column pressure drop (around 200  $\text{kg}/\text{cm}^2$ ). Next separation of diltiazem and its related compounds is investigated by the two core-shell type columns. Separation of diltiazem and its major impurity and decomposed product, deacetyl-form was successfully performed within 100 s, indicating a possibility of the fast purity testing (related substances) of diltiazem. These characteristics of core-shell type columns show the usefulness of this type column as a tool of high through put analysis.

[2012. 9. 27 受理]