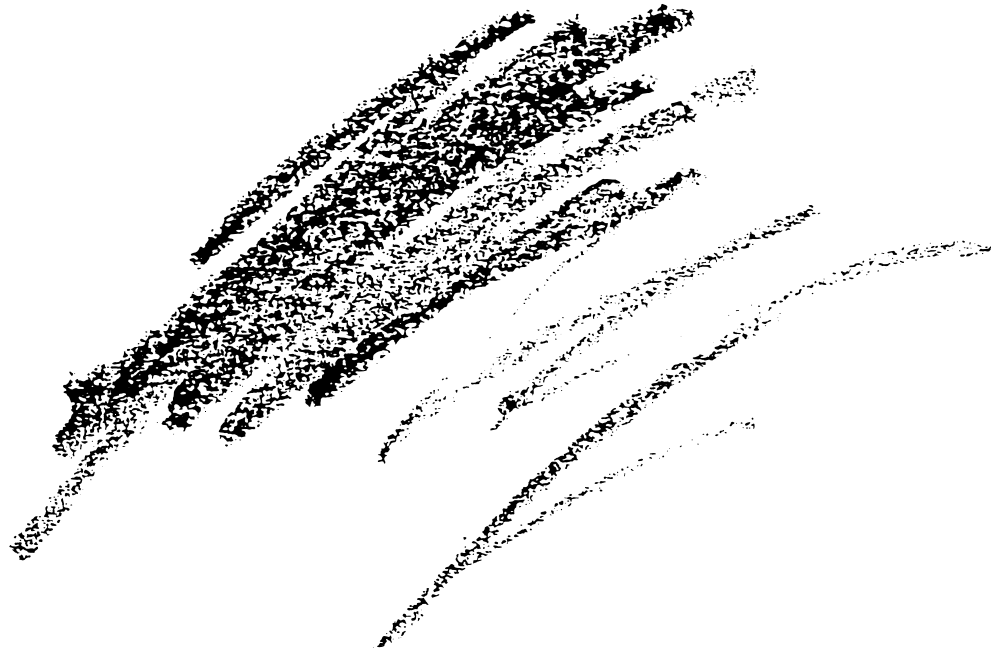




LC Application News No.74

カラムスイッチングを用いた血漿中インドメタシンの直接注入分析



血漿中の微量の薬物を分析するためには、タンパク質の除去や薬物濃縮など煩雑な前処理操作が必要となります。しかし、タンパク質を保持せずに、薬物を保持させるような制限浸透型の前処理カラムを使用することにより、血漿を直接注入し、オンライン逆相HPLCで薬物を分析することが可能となります。

ここでは、HP1100シリーズを用いた馬血漿中のインドメタシンの分析例を紹介します。

Fig.1にインドメタシン標準液(50ppb)の、Fig.2に馬血漿にインドメタシン50ppbをスパイクした時のクロマトグラムを示します。

Fig.3にカラムスイッチングシステムの概略図を示します。前処理用カラムにサンプルを注入し、まずタンパク質を溶出させます(a)。その後、インドメタシンが前処理カラムから溶出し始めると同時にバルブを切り換え、インドメタシンを分析カラムに導入します(b)。インドメタシンが完全に分析カラムに導入された後、再びバルブを切り換えて分析します(a)。

回収率は100.1%、検出限界は0.41 ng(S/N=3)でした。連続6回分析した時の保持時間の再現性は0.082%(RSD)、ピーク面積値の再現性は0.925%(RSD)でした。

インドメタシン標準液(50ppb)のクロマトグラム

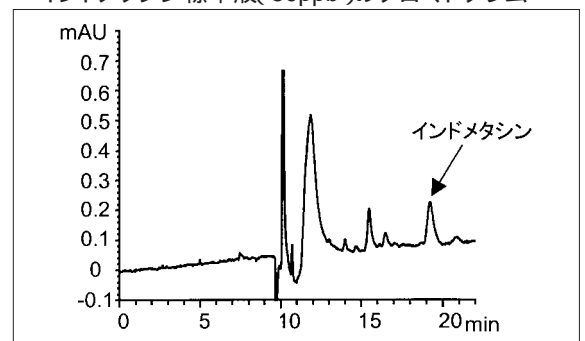


Fig.1 Chromatogram of indometacin standard(50ppb)

馬血漿にインドメタシン50ppbをスパイクしたときのクロマトグラム

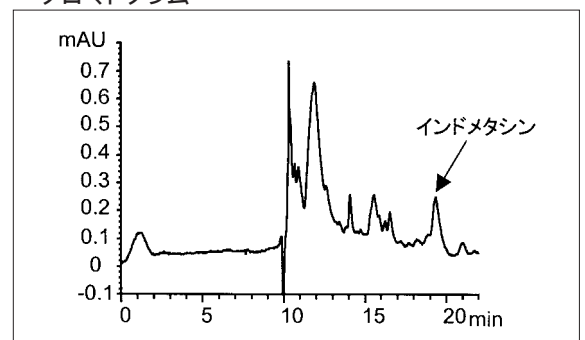


Fig.2 Chromatogram of indometacin in spiked horse plasma.

装置および方法

Table 1に装置構成、Table 2に分析条件を示します。

Table 1 System configuration

Vacuum degasser	G1322A
Isocratic pump	G1310A
Binary pump	G1312A
Automatic sampler	G1313A
Column compartment	G1316A
Diode array detector	G1315A
3D ChemStation	G1319A

Table 2 Analytical conditions

Precolumn	: TOSOH TSKprecolumn BSA-ODS	4.6 × 35mm
Analytical column	: Zorbax Eclipse XDB-C18	4.6 × 250mm
Mobile phase A for P1	: 0.1% H_3PO_4	
Mobile phase B for P1	: methanol	
Gradient for P1	: B%=0(0min)-0(5min)-70(5.01min)-70(15min)-0(15.01min)	
Mobile phase for P2	: 0.1% H_3PO_4 / methanol = 30/70	
Flow rate (P1 and P2)	: 1 mL/min	
Injection volume	: 50 μ L	
Column temp.	: 40	
Column switch setting	: column1(0min)-column2(7.4min)-column1(8.5min)	
Detector	: Diode array detector	
Wavelength/Bandwidth	: 254/8 nm	

カラムスイッチングシステム

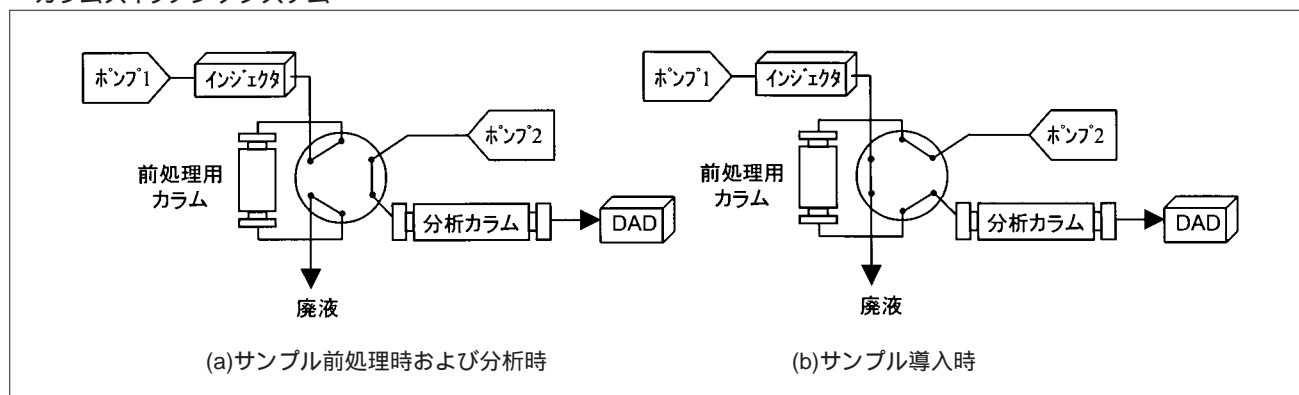


Fig.3 Schematic diagram of column switching system.