

Captiva EMR Lipid による軟膏中成分の 前処理



Author

山下 和之
澤田 有司
アジレント・テクノロジー
株式会社

要旨

軟膏中の薬効成分を分析するには基材のマトリックスの除去が必要です。軟膏の基材は脂質類を主成分とするので、Captiva EMR-Lipid の脂質除去効果に着目し、軟膏によく使われる薬効成分であるリドカインを指標物質として Captiva EMR-Lipid で軟膏の前処理効果を調べ、回収率、再現性とも良好な結果が得られました。

はじめに

Captiva EMR-Lipid は脂質を含む試料液を通過させることにより脂質を除去することを目的とした固相抽出製品です。この充填剤は長鎖を持った脂質を特異的に保持することが確認されています。

軟膏中の薬効成分の分析では、基材のマトリックスが妨害となることがあるため除去する必要があります。軟膏は脂質を主な基材として薬効成分を混合して製造されることが多く、基材の脂質類を効率的に除去することが求められます。

Captiva EMR-Lipid の脂質除去効果が軟膏の基材のマトリックスを除去できる可能性が期待できるため、本研究では軟膏の薬効成分としてよく使われるリドカインを指標物質として Captiva EMR Lipid による軟膏の前処理の効果を調べました。

システム

表 1. 装置構成

型番	装置名
G6470B	6470 トリプル四重極 MS
G7167A	1290 Infinity II マルチサンブラ
G7120A	1290 Infinity II ハイスピードポンプ

実験方法

材料

リドカインの標準品は EHRENSTORFER 社の Lignocaine base (製品コード DRE-C14629790) を使用しました。

軟膏は市販の 2 種、軟膏 A (リドカイン含有あり) と軟膏 B (リドカイン含有なし) を使用しました。

溶媒は以下のものを使用しました。

固相抽出カラムは Captiva EMR-Lipid, 6 mL 600 mg (5190-1004) を使用しました。

メタノール	富士フィルム和光純薬 LC/MS 用 138-14521
エタノール	富士フィルム和光純薬 LC/MS 用 050-09221
アセトニトリル	富士フィルム和光純薬 LC/MS 用 012-19851
イソプロパノール	富士フィルム和光純薬 特級 166-04836
アセトン	富士フィルム和光純薬 残留農薬・PCB 用 011-19201
テトラヒドロフラン	関東化学 LC/MS 用 安定剤無添加 40060-67

試料調製

Captiva EMR-Lipid の充填剤を活性化させて使用するには有機溶媒に水が 20 % 以上含まれた組成の溶媒に試料を溶解して通過させる必要があります。そのために以下の手順で軟膏 A、B の 20 % 水含有有機溶媒への溶解性を調べました。

軟膏 A、B をそれぞれ 5 mg 計量し、水と混和可能な有機溶媒 6 種類それぞれ 4 mL に溶解します。その後 20 % に相当する水 1 mL を添加し、目視で不要物が検出されるかを調べました。表 2 に不溶物が検出されなかった場合を○、検出された場合を×として各有機溶媒の水 20 % 添加時の軟膏 A、B の溶解性を示します。

表 2. 軟膏の有機溶媒 + 水 20 % 添加時の溶解性

	軟膏 A	軟膏 B
メタノール	×	○
エタノール	×	○
アセトニトリル	×	×
イソプロパノール	×	×
アセトン	×	○
テトラヒドロフラン	○	×

この結果から軟膏 A にはテトラヒドロフラン、軟膏 B にはメタノールを使用することとしました。

固相抽出処理

固相抽出は以下の手順で行ないました。

軟膏 A にはリドカインが含まれているのでそのまま処理をしてリドカインの回収率を調べました。

軟膏 A を 5 mg 計量し、テトラヒドロフラン 4 mL に溶解した後、水 1 mL を加えました。この試料液全量を Captiva EMR-Lipid カラムを通過させ、テトラヒドロフラン/水 (4/1) の溶媒 15 mL で洗浄し、洗浄液も合わせました。この回収液を 20 mL にメスアップして分析用試料としました。添付の成分表の含有量から計算した試料液中の濃度は 1000 ng/mL となり、1000 ng/mL を基準として回収率を求めました。

軟膏 B にはリドカインが含まれていないのでリドカインを添加して回収率を調べる試験を行ないました。

0.125 µg/mL の濃度でリドカインを添加したメタノール 4 mL に軟膏 B を溶解し、水 1 mL を加えました。この試料液全量を Captiva EMR-Lipid カラムを通過させ、メタノール/水 (4/1) の溶媒 15 mL で洗浄し、洗浄液を合わせました。この回収液を 20 mL にメスアップして分析用試料としました。計算上の分析用試料中のリドカイン濃度は 25 ng/mL になります。この 25 ng/mL を基準として回収率を求めました。

分析条件

表 3 の条件で LC/MS/MS で分析しました。

表 3. 分析条件

パラメータ	分析
HPLC カラム	Agilent InfinityLab Poroshell CS-C18, 2.1 x 50 mm, 2.7 μm, PEEK-lined (P/N 679775-942)
移動相	A) 0.1 % 酢酸水溶液 B) 0.1 % 酢酸アセトニトリル溶液
流速	0.3 mL/分
グラジエント	%B : 0 分, 10 %; 0.5 分, 10 %; 1 分, 95 %; 2 分, 95 %; 2.1 分, 10 %; 5 分, 10 %.
注入量	0.1 μL
カラム温度	50 °C
MS 検出	イオンソース設定 乾燥ガス : 300 °C, 12 L/min シースガス : 250 °C, 11 L/min ネブライザ : 45 psi 極性 : ポジティブ リドカイン測定の MRM 条件 プリカーサーイオン : 235 プロダクトイオン : 86 フラグメンター電圧 : 110 V コリジョンエネルギー : 17 eV

結果および考察

リドカインの標準品を LC/MS/MS で分析した MRM クロマトグラムを 図 1 に示します。

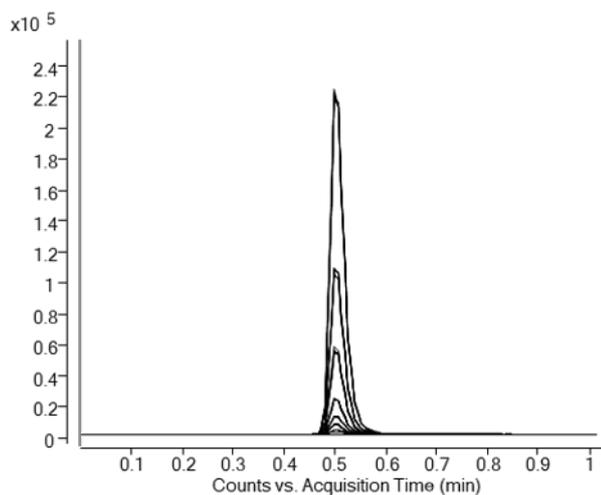


図 1. リドカイン標準品の MRM クロマトグラム (1, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 ng/mL を各 6 回測定した重ね合わせ図)

図 2 にリドカインの標準品で作成した検量線を示します。良好な直線性が得られました。

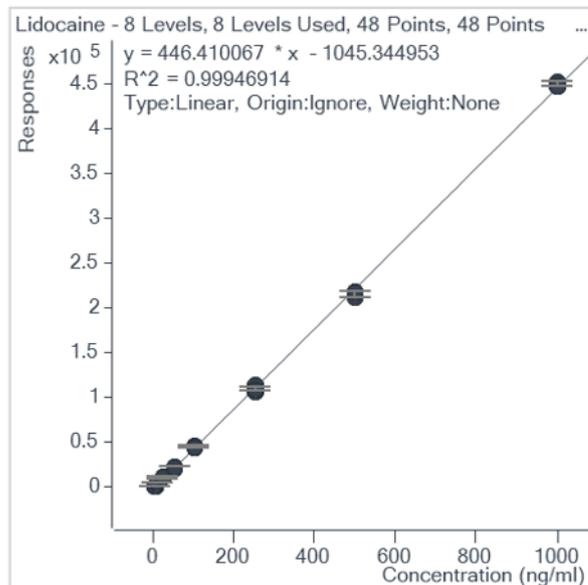


図 2. リドカインの検量線

図 3 に軟膏 A から検出されたリドカインの MRM クロマトグラムを、図 4 に軟膏 B に添加回収したリドカインの MRM クロマトグラムを示します。いずれも良好なピークが得られました。

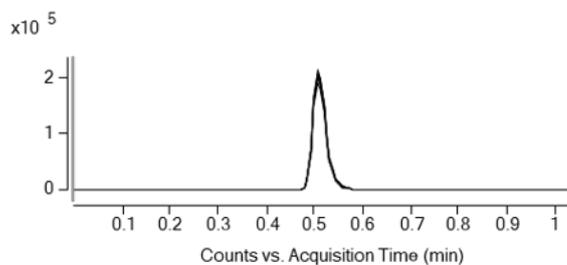


図 3. 軟膏 A から検出されたリドカインの MRM クロマトグラム (6 回測定重ね合わせ)

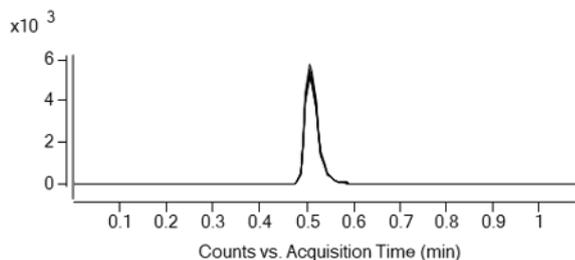


図 4. 軟膏 B に添加回収したリドカインの MRM クロマトグラム (6 回測定重ね合わせ)

表 4 に軟膏 A から検出されたリドカインの定量値、回収率、RSD (%) を、表 5 に軟膏 B に添加回収したリドカインの定量値、回収率、RSD (%) を示します。

表 4. 軟膏 A から検出されたリドカインの定量値、回収率

	定量値 (ng/mL)	回収率 (%)
1 回目	976.1	97.6
2 回目	884.7	88.5
3 回目	945.3	94.5
4 回目	917.6	91.8
5 回目	965.1	96.5
6 回目	964.2	96.2
平均	942.2	94.2

RSD (%) =3.7

表 5. 軟膏 B に添加回収したリドカインの定量値、回収率

	定量値 (ng/mL)	回収率 (%)
1 回目	23.2	92.8
2 回目	24.7	98.6
3 回目	24.0	95.8
4 回目	24.0	96.0
5 回目	25.4	101.7
6 回目	26.2	104.6
平均	24.6	98.3

RSD (%) =4.4

軟膏 A、軟膏 B いずれの場合も良好な回収率と再現性が得られました。本結果より Captiva EMR Lipid で処理することにより、軟膏中の成分は再現性良く、良好な回収率で回収できると思われます。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンタ

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

DE58782066

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2022

Printed in Japan, September 9, 2022

5994-5333JAJP