

Application News

No. L550

高速液体クロマトグラフィー

Nexera™ XRによる米国薬局方に準拠したメロキシカムの分析

メロキシカムはプロスタグランジン合成阻害活性を有し、関節炎などの消炎・鎮痛に用いられています。米国薬局方 (USP) では、メロキシカムの試験法として、紫外可視吸光光度検出器を用いたHPLC法が採用されています。

ここでは、Nexera XRによるUSPに準拠したメロキシカムを分析し、Prominence™シリーズとの互換性を確認した例をご紹介します。

T. Yoshioka

■システム適合性試験

メロキシカムの定量法における分析条件を表1に、システム適合性試験に用いる溶液の調製法を表2に、分析結果を図1に示します。メロキシカム類縁物質A¹⁾のメロキシカムに対する相対保持時間は0.6で、参考値の0.7に近い値でした。システム適合性試験の基準値および結果を表3に示します。全ての項目においてシステム適合性を満たしていることがわかります。

表1 分析条件 (定量法)

Column	: Shim-pack™ GIST C18 (USP code : L1)
	: (150 mmL × 4.6 mmI.D., 5 μm)
Mode	: Isocratic
Mobile phase	: Methanol/solution A = 21/29
Flow rate	: 1 mL/min
Column temp.	: 45°C
Injection volume	: 10 μL
Detection	: PDA detector (360 nm)

表2 溶液調製法 (定量法)

Solution A:	
Mixture of a 0.1% (w/v) solution of ammonium acetate adjusted with 10% ammonia solution to a pH of 9.1	
Diluent:	
Methanol and 1 N sodium hydroxide (250:1)	
System suitability solution:	
0.08 mg/mL each of meloxicam and meloxicam related compound A. Prepared by dissolving in 50% of the flask volume of diluent and diluting with water to volume.	
Standard solution:	
0.2 mg/mL of meloxicam. Prepared by dissolving in 50% of the flask volume of diluent and diluting with water to volume.	

表3 システム適合性試験結果 (定量法)

Test items	Criteria	Result	Judgement
Resolution between meloxicam related compound A and meloxicam	≥ 3.0	9.37	Passed
Tailing factor (meloxicam)	≤ 2.0	1.14	Passed
Relative standard deviation of peak area (n=6)	≤ 2.0%	0.046%	Passed

- 1) Isopropyl-4-hydroxyl-2-methyl-2H-1, 2-benzothiazine-3-carboxylate-1, 1-dioxide
- 2) 2-Amino-5-methyl-thiazole

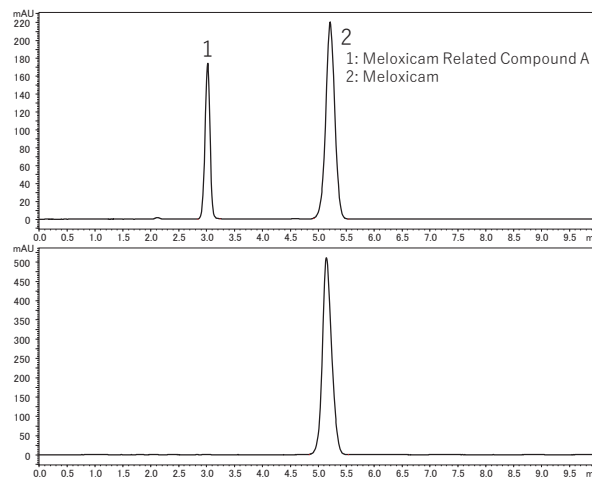


図1 定量法のクロマトグラム
上段：システム適合性試験溶液 下段：標準溶液

メロキシカムの不純物分析における分析条件を表4に、システム適合性試験に用いる溶液の調製法を表5に、分析結果を図2に示します。メロキシカム類縁物質B²⁾とメロキシカム類縁物質Aのメロキシカムに対する相対保持時間はそれぞれ0.5、1.3で、参考値の0.4、1.4に近い値でした。システム適合性試験の基準値および結果を表6に示します。全ての項目においてシステム適合性を満たしていることがわかります。

表4 分析条件 (不純物分析)

Column	: Shim-pack GIST C18 (USP code : L1)
	: (150 mmL × 4.6 mmI.D., 5 μm)
Mode	: High pressure gradient
Mobile phase	: A) Solution A B) Methanol
Time program	: 40%B (0 min) => 40%B (2min) => 70%B (10min) => 70%B (15 min) => 40%B (15.01 min) => 40%B (18 min)
Flow rate	: 1 mL/min
Column temp.	: 45°C
Injection volume	: 5 μL
Detection	: PDA detector (350 nm, 260 nm)

表5 溶液調製法 (不純物分析)

Solution A:	
0.1% (w/v) solution of monobasic potassium phosphate adjusted with 1 N sodium hydroxide to a pH of 6.0	
Diluent:	
Methanol and 1 N sodium hydroxide (50:3)	
System suitability solution:	
0.08 mg/mL each of meloxicam, meloxicam related compound A and meloxicam B. Prepared by dissolving in 10% of the flask volume of diluent and diluting with methanol to volume.	
Standard stock solution:	
0.6 mg/mL of meloxicam. Prepared by dissolving in 25% of the flask volume of diluent and diluting with methanol to volume.	
Standard solution:	
0.012 mg/mL of meloxicam in methanol from standard stock solution.	

表6 システム適合性試験結果 (不純物分析)

Test items	Criteria	Result	Judgement
Resolution between meloxicam and meloxicam related compound A at 350 nm (system suitability solution)	≥ 3.0	7.18	Passed
Resolution between meloxicam and meloxicam related compound B at 260 nm (system suitability solution)	≥ 3.0	17.6	Passed
Relative standard deviation of peak area (n=6) (Standard solution)	≤ 10%	0.30% (350 nm)	Passed

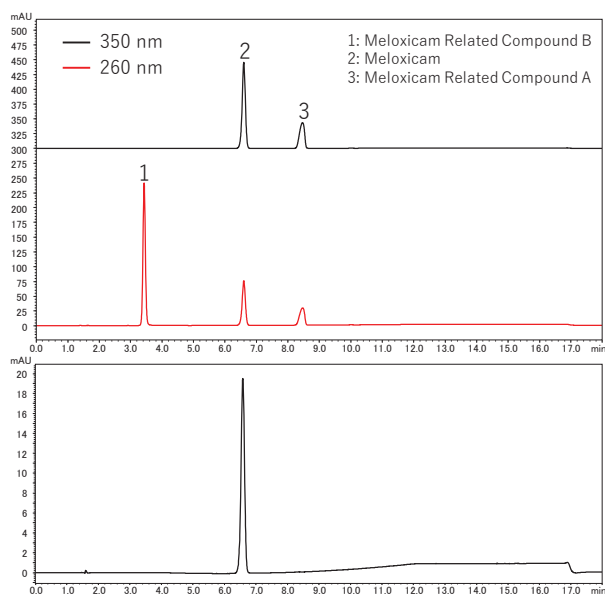


図2 不純物分析のクロマトグラム
上段：システム適合性試験溶液
下段：標準溶液

■ ACTO機能を用いたProminenceシリーズとの互換性の確認

グラジエント分析において、機種間によるグラジエント遅れ容量の違いから、クロマトグラムに差が生じる場合があります。図3にNexera XR (ミキサー容量180 μL)とProminence (ミキサー容量0.5、1.6、2.7 mL)を用いてシステム適合性試験溶液 (不純物分析) を分析した際のクロマトグラム (260 nm) の比較を示します。システムの違いによって溶出時間が変化することが分かります。このような場合、Labsolutions™のACTO (Analytical Condition Transfer and Optimization) 機能を用いてグラジエント開始タイミングを調整することで、配管やミキサーなどの部品を交換することなくスムーズなメソッド移管が可能になります。図4にProminenceとACTO機能を利用したNexera XRによる互換性確認の結果を示します。これより、ACTO機能を用いることで、異なる機種間でも同様のクロマトグラムが得られることが分かります。

Nexera、Prominence、Shim-packおよびLabSolutionsは、株式会社島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

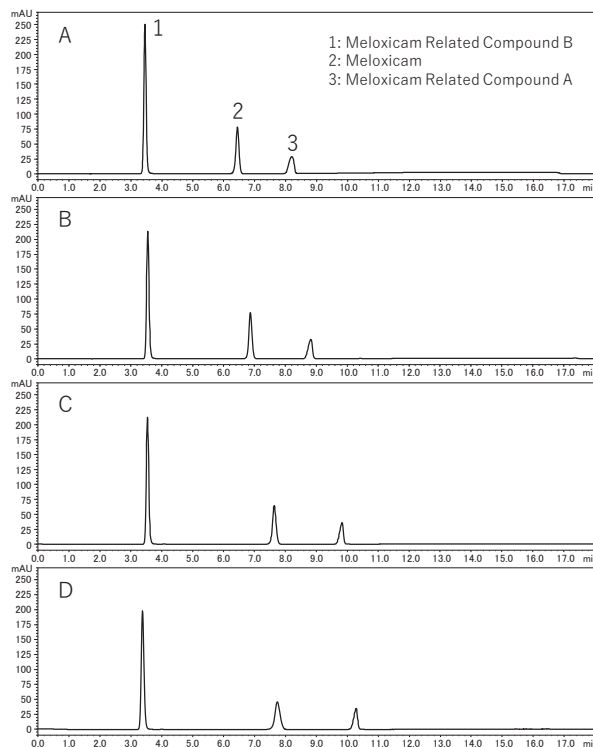


図3 Nexera XRとProminenceでのクロマトグラムの比較
A : Nexera XR (ミキサー容量180 μL)
B : Prominence (ミキサー容量0.5 mL)
C : Prominence (ミキサー容量1.7 mL)
D : Prominence (ミキサー容量2.5 mL)

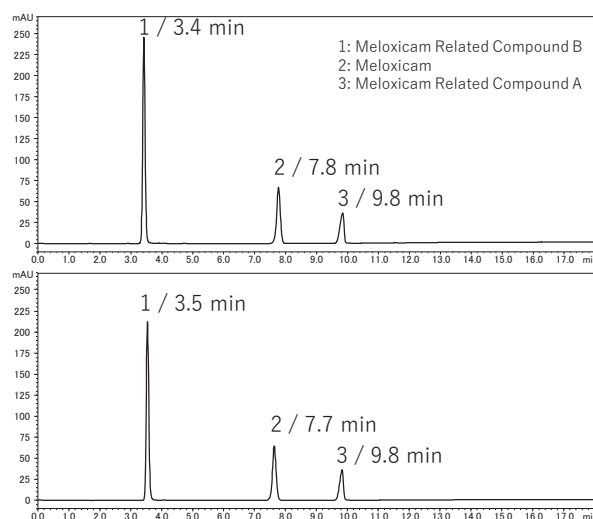


図4 ACTO機能による遅れ容量の補正
上段：Nexera XR (グラジエント開始時間補正後)
下段：Prominence (ミキサー容量1.7 mL)

■ まとめ

本稿では、Nexera XRを用いたUSPに準拠したメロキシカムの分析を行い、システム適合性を満たしていることを確認しました。また、グラジエント遅れ容量が大きい既存のシステムでメロキシカムの分析をされている場合でも、ACTO機能にてグラジエント遅れ容量を調整することにより、従来と同様の分析を行うことが可能です。

<参考文献>

United States Pharmacopeia 40-NF 35, 2017

株式会社 島津製作所

分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2019年9月

島津コールセンター ☎0120-131691
(075) 813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。