

ポストカラム誘導体化法による ボグリボースの分析

No. L580A

周 毅婷

ユーザーベネフィット

- ◆ 第十七改正日本薬局方収載「ボグリボース錠定量法」に従い、システムの性能と再現性の基準を満たす分析ができます。
- ◆ 蛍光検出器のセル温度を15℃に制御できるため、冷却用の恒温槽が必要ありません。
- ◆ 反応部を含めたシステムとしてデータインテグリティに対応します。

■はじめに

ボグリボースは糖尿病治療薬の一つとして知られています。腸管において、二糖から単糖への分解を担う α -グルコシダーゼの活性を阻害することにより、糖質の消化・吸収を遅延させ、食事後の血糖を改善することが可能です。

ボグリボースは紫外吸収を持たないため、第十七改正日本薬局方にはタウリン/過ヨウ素酸ナトリウム試薬によるHPLCポストカラム蛍光誘導体化法を用いた試験法（ボグリボース純度試験、ボグリボース錠定量法）が記載されています。

本稿では、第十七改正日本薬局方収載「ボグリボース錠定量法」に従い、Nexera™シリーズを用いた分析例をご紹介します。

■ボグリボース標準溶液の分析

ポストカラム誘導体化反応は、ワークステーションLabSolutions™から制御可能な化学反応槽CRB-40を用いて行いました。図1にLabSolutions上の表示画面を示します。分析結果に紐付けて、分析メソッド、分析作業の開始から終了までの操作ログや装置ステータスをまとめて管理し、反応部を含めたシステムでデータインテグリティへの対応が可能です。

分析条件を表1に、今回の分析で構築したシステムの流路図を図2に示します。日本薬局方では、100℃付近の一定温度で反応後、15℃付近の一定温度で冷却することが記載されています。本システムでは、反応液をいったんカラムオープンにて25℃に冷却させた後、蛍光検出器のセル温度を15℃に設定し、指定温度で冷却を行いました。これにより、冷却用の恒温槽が不要となります。

1 mg/Lボグリボース標準溶液を50 μ L注入したクロマトグラムを図3に示します。

表1 分析条件

<Separation>	
System	: Nexera lite
Column	: Shim-pack™ GIST NH2 (150 mm x 4.0 mm I.D., 5 μ m) *1
Vial	: SHIMADZU LabTotal™ Vial for LC 1.5 mL, Glass *2
Mobile phase	: Sodium phosphate buffer (pH 6.5)/ Acetonitrile = 300:600
Flow rate	: 0.37 mL/min
Column temp.	: 25 °C
Injection volume	: 50 μ L
<Detection>	
Reaction reagent	: Taurine/Sodium periodate aqueous solution
Flow rate	: 0.37 mL/min
Reaction temp.	: 100 °C
Cooling temp.	: 25 °C (CTO-40C) \rightarrow 15 °C (RF-20AXS)
Detection	: Fluorescence detector (RF-20AXS) Ex. 350 nm, Em. 430 nm
Cell temp.	: 15 °C *3

*1. P/N: 227-30301-06, *2. P/N: 227-34001-01

*3. Room temperature should be controlled below 20 °C.

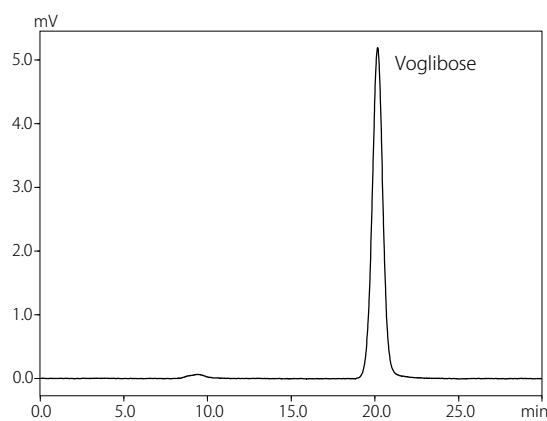


図3 ボグリボース標準溶液 (1 mg/L) のクロマトグラム



図1 LabSolutions上の表示画面

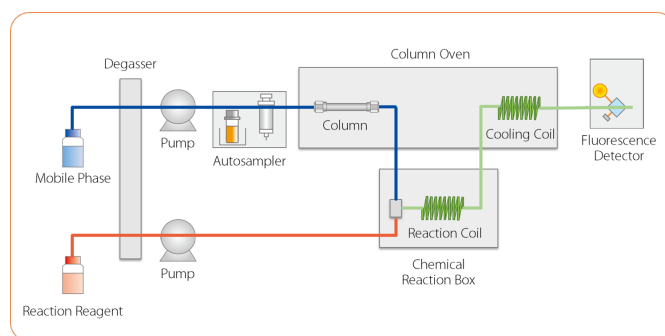


図2 ボグリボース錠分析用システムの流路図

■ システム適合性試験

第十七改正日本薬局方「ボグリボース錠定量法」に記載の「システム適合性」試験を行いました。

図4にシステムの性能を評価するための4 g/L乳糖と40 mg/Lボグリボースを含む試験溶液のクロマトグラムを示し、図5にシステムの再現性を評価するための40 mg/Lボグリボース標準溶液のクロマトグラムを示します。

表2にシステム適合性試験の結果を示します。乳糖とボグリボースの分離度は5.2で、日本薬局方の基準（4以上）を満たすことを確認しました。ボグリボースのピーク面積値相対標準偏差（%RSD）は0.13%（n=6）で、日本薬局方の基準（2%以下）を満たすことを確認しました。

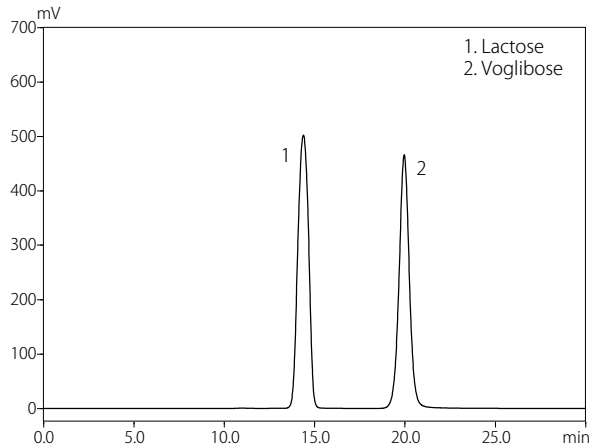


図4 乳糖(4 g/L), ボグリボース(40 mg/L) 標準混合溶液のクロマトグラム

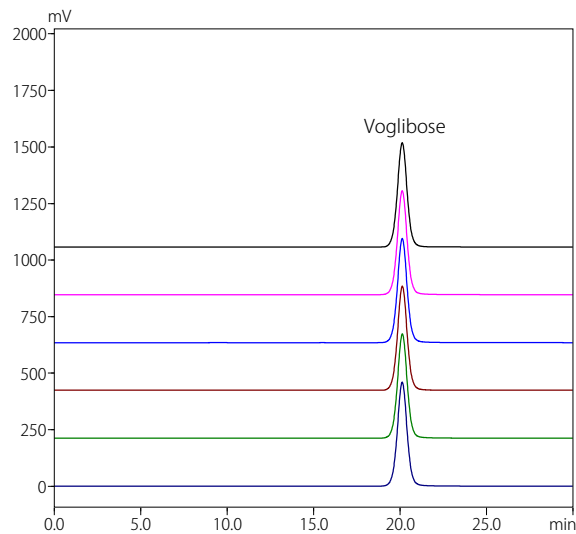


図5 ボグリボース(40 mg/L) 標準溶液のクロマトグラム (n=6)

表2 システム適合性試験の結果

Test item	Criteria	Result	Judgement
Resolution (Between lactose and voglibose)	≥ 4	5.2	Passed
Relative standard deviation of area (%) (n=6)	≤ 2	0.13	Passed

Nexera、LabSolutions、Shim-pack、SHIMADZU LabTotal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。

■ 直線性

図6にボグリボース標準溶液の濃度が25、40、100、250、1000 $\mu\text{g/L}$ の検量線を示します。この濃度範囲において r^2 （寄与率）は0.9999以上と良好な直線性が得られました。

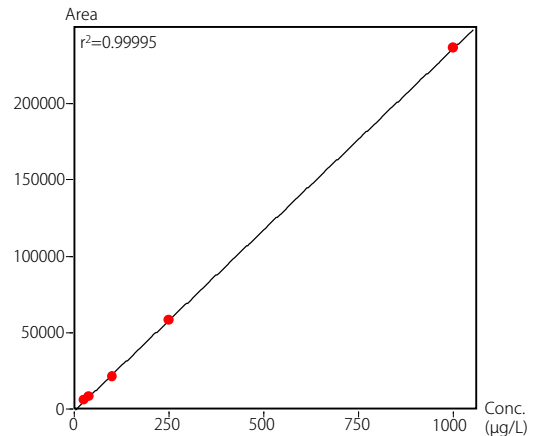


図6 ボグリボース標準溶液の検量線 (25 $\mu\text{g/L}$ ~1000 $\mu\text{g/L}$)

■ 高感度の分析例

図7に25 $\mu\text{g/L}$ *ボグリボース標準溶液を50 μL 注入した時のクロマトグラムを示します。25 $\mu\text{g/L}$ の濃度の低い標準溶液でも、ピーク面積値%RSD（n=6）は1.1%であり、良好な再現性を示しました。

*日本薬局方収載の定量法における標準溶液濃度は、40 mg/Lです。

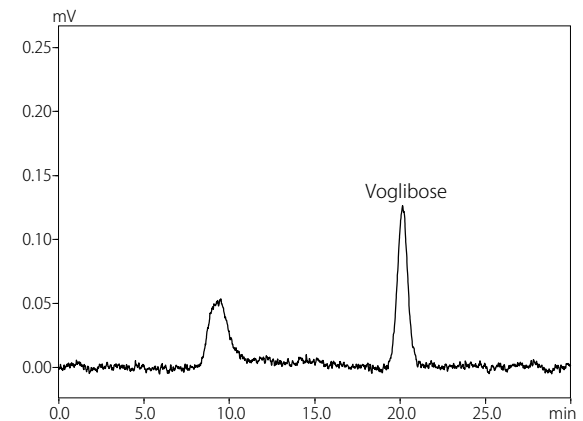


図7 ボグリボース標準溶液のクロマトグラム (25 $\mu\text{g/L}$)

■ まとめ

本稿では、第十七改正日本薬局方に記載されている「ボグリボース錠定量法」に従い、Nexeraシリーズを用いて分析を行いました。システム適合性試験の結果、システムの性能と再現性はいずれも日本薬局方の基準を満たすことを確認しました。

また、25 $\mu\text{g/L}$ ボグリボース標準溶液を6回繰り返して分析しました。このような低濃度の試料でも再現性よく分析できたことから、Nexeraシリーズは試料の濃度によらず、信頼性の高い結果が得られます。