

ナファモスタットメシル酸塩 – 日本薬局方 – Analysis of Nafamostat mesilate

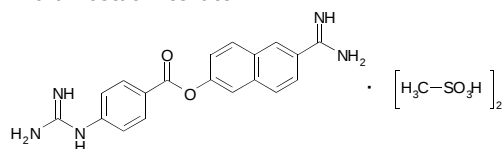
ナファモスタットは新型コロナウイルス感染症(COVID-19)のウイルス侵入に対する阻害効果が期待される薬剤として注目されています(2020年現在)。もともとは急性膵炎の治療薬として国内で長年にわたり処方されてきたため、安全性については十分な臨床データがあります。第十七改正日本薬局方では、ナファモスタットの純度試験の類縁物質の項目においてイオン対試薬を用いたHPLC分析が規定されます。今回は L-column3 を用い分析を行った結果、L-column3 C18 5 μm はシステム適合性に記載された要求をすべて満たすカラムであることが確認できました。さらにイオン対試薬を用いず分離を試みたところ、水系リッチなグラジエント分析により良好な分離を達成できました。イオン対試薬を使用しないメソッドはLC-MS/MS 分析にも適用可能です。

キーワード : 第十七改正日本薬局方, 純度試験, システム適合性, C18, オクタデシルシリル化シリカゲル, ナファモスタット

Key words : JP 17, Purity test, System suitability, Octadecyl silanized silica gel, Nafamostat

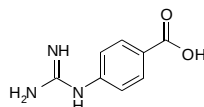
Column : L-column3 C18 (USP category: L1)

1. Nafamostat mesilate

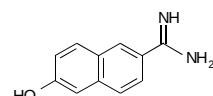


in eluent Sample solution : 1000 mg/L
 Standard solution : 5 mg/L
 Test for required detectability : 0.075 mg/L

a. *p*-Guanidinobenzoic acid※



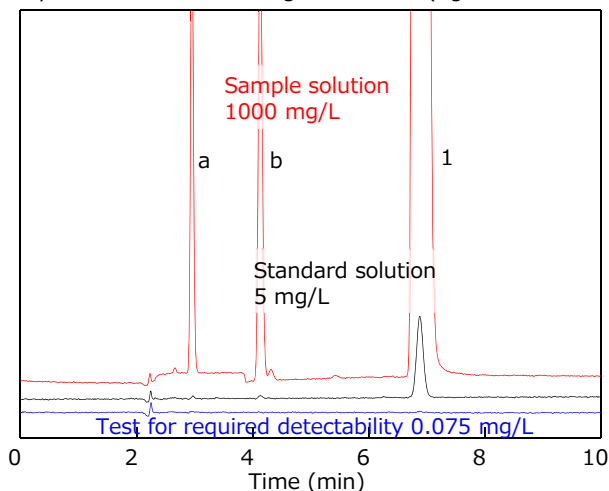
b. 6-Amidino-2-naphthol ※



※ ; ナファモスタットの分解物
(システムのパフォーマンス、再現性については1及びbの混合溶液を試料とするが今回はaも参考として追加した)

[Analytical conditions]

Column : L-column3 C18 (C18, 5 μm, 12 nm); 4.6 mm I.D. × 250 mm L; Cat. No. 822080
Eluent : 6.07 g/L 1-heptane sulfonate in 0.6% acetic acid/CH₃CN (70/30)
Flow rate : 1.2 mL/min
Temperature : 40°C
Detection : UV 260 nm
Injection volume : 10 μL
System : Agilent1200SL (Agilent Technologies Japan, Ltd)

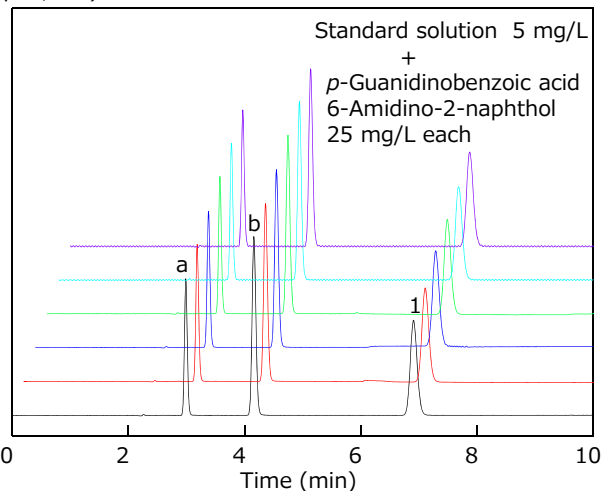


Test for required detectability.

■ システム適合性

〈検出の確認〉

検出の確認時のピーク面積は標準溶液のピーク面積の1.10%であり、規格の1.1~1.9%を満たしました。



System performance and system repeatability.

〈システムのパフォーマンス〉

ナファモスタットと6-アミジノ-2-ナフトールの分離度は16.1であり、規格の6以上を満たしました。

〈システムの再現性〉

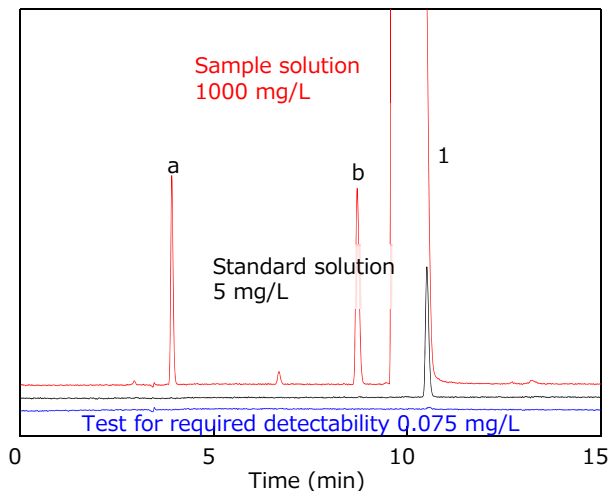
ナファモスタットのピーク面積の相対標準偏差は0.49%であり、規格の2.0%以下を満たしました。

ナファモスタットは加水分解により容易にエステル結合が切断して*p*-グアニジノ安息香酸及び6-アミジノ-2-ナフトールに分解します。ナファモスタット及びその分解物は疎水性が弱く保持されにくいためイオン対クロマトグラフィーが有効となります。

2020.07 Oba

[Analytical conditions]

Column : L-column3 C18 (C18, 5 μ m, 12 nm); 4.6 mm I.D. $\times$ 250 mm L; Cat. No. 822080
 Eluent : A: CH₃CN; B: 0.6% acetic acid
 A/B, 5/95-20/80-20/80 (0-15-25 min)
 Flow rate : 1 mL/min
 Temperature : 40°C
 Detection : UV 260 nm
 Injection volume : 10 μ L
 System : Agilent1200SL (Agilent Technologies Japan, Ltd)

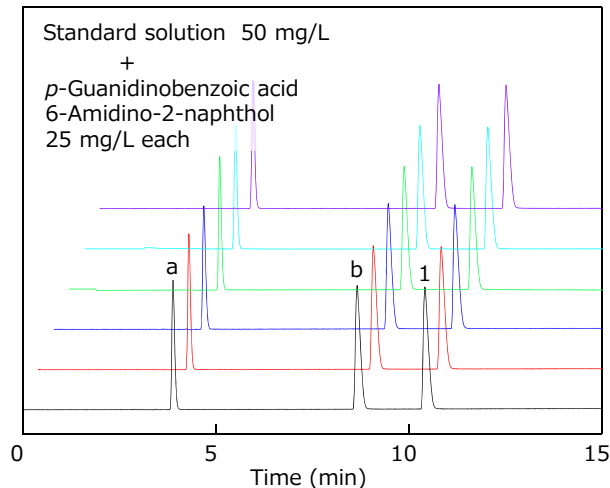


Test for required detectability.

■ システム適合性

〈検出の確認〉

検出の確認時のピーク面積は標準溶液のピーク面積の1.65%でした。



System performance and system repeatability.

〈システムの性能〉

ナファモスタットと6-アミノ-2-ナフトールの分離度は7.3でした。

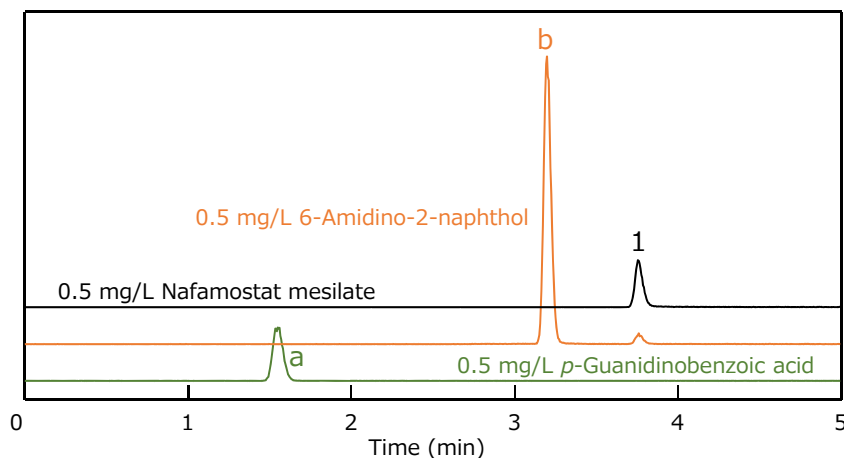
〈システムの再現性〉

ナファモスタットのピーク面積の相対標準偏差は0.29%でした。

イオン対試薬を用いないメソッドでも分解物とメインピークを完全に分離することができました。L-column3 は水系100%のメソッドにおいても安定した分析が可能ですので、このような水系の組成が多いグラジエント分析にも問題なく使用できます。

[Analytical conditions]

Column : L-column3 C18 (C18, 3 μ m, 12 nm); 2.1 mm I.D. $\times$ 100 mm L; Cat. No. 811170
 Eluent : A: CH₃CN; B: 0.6% acetic acid
 A/B, 2/98-20/80 (0-5 min)
 Flow rate : 0.3 mL/min
 Temperature : 40°C
 Detection : ESI-MS/MS(+)
 Injection volume : 1 μ L
 System : Ultimate 3000 3200QTAP



LC-MS/MS analysis of Nafamostat mesilate and related substances.

2020.07 Saka, Oba