

逆相クロマトグラフィーを用いた薬物の分離
—血中濃度モニタリング (TDM) 用薬物の分離—

薬物の中には、その効果または中毒の発現と、薬物およびその活性代謝物の血中濃度の関係が明らかにされているものがあり、その血中濃度測定が治療を行う際に有効です。この血中濃度測定は、治療上での薬物の血中濃度の監視という観点から薬物血中濃度モニタリング (Therapeutic Drug Monitoring, TDM) と呼ばれています。TDMに関しては、抗てんかん薬、不整脈治療薬、抗リウマチ薬など薬物投与に関する血中濃度測定に特定薬剤治療管理料が設けられています。

TDMに用いられる測定法としては、主として、免疫測定法 (イムノアッセイ) やクロマトグラフィー分析法があります。クロマトグラフィー分析法のうちHPLC法は、薬物とその代謝物、併用投与される類似薬物など同時多成分分析や一斉分析に優れており、特に逆相クロマトグラフィーが多用されています。ここでは、TDM用薬物を各種逆相クロマトグラフィー用カラムを用いて分析しました。その結果を表に示します。表より、多くの薬物において、分析での検出限界が、薬物の治療濃度範囲より十分低いことがわかりました。汎用ODSカラム (内径 4.6 mm) のほか、5ミクロンODSを用いたセミマイクロカラム (TSKgel ODS-80Ts) や2ミクロンODSを用いた迅速高性能分析 (TSKgel Super-ODS) も今後十分適用できると考えられます。

使用したカラムおよび分析条件は以下の通りです。

(カラム)

5ミクロンODS	; TSKgel ODS-80Ts	4.6 mm I.D. x 15 cm (汎用カラム)
	; TSKgel ODS-80Ts	2.0 mm I.D. x 15 cm (セミマイクロカラム)
2ミクロンODS	; TSKgel Super-ODS	4.6 mm I.D. x 10 cm, 4.6 mm I.D. x 5 cm
2ミクロンC8	; TSKgel Super-Octyl	4.6 mm I.D. x 10 cm, 4.6 mm I.D. x 5 cm
2ミクロン Phenyl	; TSKgel Super-Phenyl	4.6 mm I.D. x 10 cm, 4.6 mm I.D. x 5 cm

(分析条件)

溶離液、流速、検出は、表中および表末に記載。

温度は、40 °C、試料は、50 ng/ml ~ 100 ug/ml を、2 ~ 5 μ l 注入した。

血中濃度モニタリング (TDM) 用薬物の逆相クロマトグラフィによる分析

薬物名	カラム (mmID x mm)	溶離液	流速 (ml/min)	検出 (UV, nm)	溶出位置 (min)	検出限界 (S/N = 3)	TDM 治療濃度範囲
精神神経用薬							
イミプラミン	Super-ODS 4.6 x 50	A	1	220	3.76	29ng/ml	100-350ng/ml
デシプラミン	Super-ODS 4.6 x 50	A	1	220	4.17	23ng/ml	100-350ng/ml
ノルトリプチリン	Super-ODS 4.6 x 50	A	1	220	4.62	25ng/ml	50-150ng/ml
抗悪性腫瘍薬							
メトトレキサート	Super-ODS 4.6 x 50	B	1.5	254	3.64	2.4ug/ml	>10 ⁻⁸ M
	ODS-80Ts 2.0 x 150	B	0.2	254	27.34	0.56ug/ml	>10 ⁻⁸ M
循環器官用薬							
プロプロパノール							
	Super-ODS 4.6 x 50	C	1.5	220	1.6	6.9ng/ml	50-150ng/ml
	Super-Octyl 4.6 x 50	C	1.5	220	1.33	7ng/ml	50-150ng/ml
	Super-Phenyl 4.6 x 50	C	1.5	220	0.94	5.7ng/ml	50-150ng/ml
	ODS-80Ts 4.6 x 150	C	1	220	6.23	22ng/ml	50-150ng/ml
	ODS-80Ts 2.0 x 150	C	0.2	220	9.71	6.3ng/ml	50-150ng/ml
リドカイン							
	Super-ODS 4.6 x 50	D(E)	1(1.5)	210	2.74(3.99)	50ng/ml	1.5-5ug/ml
	Super-Octyl 4.6 x 50	E	1.5	210	2.82	166ng/ml	1.5-5ug/ml
	Super-Phenyl 4.6 x 50	E(F)	1.5(1)	210	1.19(2.72)	(240ng/ml)	1.5-5ug/ml
キニジン							
	Super-Octyl 4.6 x 100	G	1.5	254	1.73	160ng/ml	2-5ug/ml
	Super-Phenyl 4.6 x 100	G	1.5	254	2.13	-	2-5ug/ml
ジソピラミド							
	Super-Octyl 4.6 x 100	G	1.5	254	4.32	-	2-5ug/ml
	Super-Phenyl 4.6 x 100	G	1.5	254	3.84	-	2-5ug/ml
プロカインアミド							
	Super-Octyl 4.6 x 100	G	1.5	254	0.84	-	4-10ug/ml
	Super-Phenyl 4.6 x 100	G	1.5	254	0.94	-	4-10ug/ml
鎮痛消炎薬							
サリチル酸							
	Super-ODS 4.6 x 100	H	1	283	2.55	-	150-300ug/ml
	ODS-80Ts 4.6 x 150	H	1	283	6.12	-	150-300ug/ml
	ODS-80Ts 2.0 x 150	H	0.15	283	8.66	71ng/ml	150-300ug/ml

その他薬物の逆相クロマトグラフィによる分析

薬物名	カラム (mmID x mm)	溶離液	流速 (ml/min)	検出 (UV, nm)	溶出位置 (min)	検出限界
N-アセチルプロカイナム アミド	Super-Octyl 4.6 x 100	G	1.5	254	0.89	-
	Super-Phneyl 4.6 x 100	G	1.5	254	1.01	-
キニーネ	Super-Octyl 4.6 x 100	G	1.5	254	1.89	-
	Super-Phneyl 4.6 x 100	G	1.5	254	2.13	-
鎮痛消炎薬 ゲンチシン酸	Super-ODS 4.6 x 100	H	1	283	1.3	-
	ODS-80Ts 4.6 x 150	H	1	283	2.7	-
	ODS-80Ts 2.0 x 150	H	0.15	283	3.78	-
アスピリン	Super-ODS 4.6 x 100	H	1	283	1.82	-
	ODS-80Ts 4.6 x 150	H	1	283	4.04	-
	ODS-80Ts 2.0 x 150	H	0.15	283	5.75	-
エテンザミド	Super-ODS 4.6 x 100	I-1	1.5	273	3.78	-
	ODS-80Ts 4.6 x 150	I-2	1	273	15.4	-
	ODS-80Ts 2.0 x 150	I-3	0.15	273	16.45	290ng/ml
フェナセチン	Super-ODS 4.6 x 100	I-1	1.5	273	3.89	-
	ODS-80Ts 4.6 x 150	I-2	1	273	16.04	-
	ODS-80Ts 2.0 x 150	I-3	0.15	273	17.27	240ng/ml
強心利尿薬 テオブロミン	Super-ODS 4.6 x 100	I-1	1.5	273	1.02	-
	ODS-80Ts 4.6 x 150	I-2	1	273	3.6	-
	ODS-80Ts 2.0 x 150	I-3	0.15	273	4.53	31ng/ml
循環器官用薬 L-ドーパ	Super-ODS 4.6 x 100	K	1	210	0.74	259ng/ml
	ODS-80Ts 2.0 x 150	K	0.2	210	4.51	3.75ug/ml

アセトミノフェン	Super-ODS	4.6 x 100	I-1	1.5	273	1.22	-	(1-10ug/ml)
	ODS-80Ts	4.6 x 150	I-2	1	273	4.48	-	(1-10ug/ml)
	ODS-80Ts	2.0 x 150	I-3	0.15	273	5.75	160ng/ml	(1-10ug/ml)
喘息治療薬 テオフィリン	Super-ODS	4.6 x 100	I-1	1.5	273	1.28	-	10-20ug/ml
	ODS-80Ts	4.6 x 150	I-2	1	273	4.95	-	10-20ug/ml
	ODS-80Ts	2.0 x 150	I-3	0.15	273	6.25	43ng/ml	10-20ug/ml
抗てんかん薬 エトスキシミド	Super-ODS	4.6 x 100	J-1	1.5	210	1.36	-	40-100ug/ml
	ODS-80Ts	4.6 x 150	J-2	1	210	4.58	-	40-100ug/ml
	ODS-80Ts	2.0 x 150	J-2	0.15	210	8.54	-	40-100ug/ml
プリミドン	Super-ODS	4.6 x 100	J-1	1.5	210	1.53	-	5-12ug/ml
	ODS-80Ts	4.6 x 150	J-2	1	210	5.01	-	5-12ug/ml
	ODS-80Ts	2.0 x 150	J-2	0.15	210	9.89	-	5-12ug/ml
フェノバルビタール	Super-ODS	4.6 x 100	J-1	1.5	210	2.42	-	15-35ug/ml
	ODS-80Ts	4.6 x 150	J-2	1	210	7.54	-	15-35ug/ml
	ODS-80Ts	2.0 x 150	J-2	0.15	210	13.16	-	15-35ug/ml
カルバマセピン	Super-ODS	4.6 x 100	J-1	1.5	210	3.1	-	4-12ug/ml
	ODS-80Ts	4.6 x 150	J-2	1	210	10.54	-	4-12ug/ml
	ODS-80Ts	2.0 x 150	J-2	0.15	210	18.1	-	4-12ug/ml
フェニトイン	Super-ODS	4.6 x 100	J-1	1.5	210	3.18	-	10-20ug/ml
	ODS-80Ts	4.6 x 150	J-2	1	210	10.73	-	10-20ug/ml
	ODS-80Ts	2.0 x 150	J-2	0.15	210	18.34	-	10-20ug/ml
クロナゼパム	Super-ODS	4.6 x 100	J-1	1.5	210	3.72	-	5-50ng/ml
	ODS-80Ts	4.6 x 150	J-2	1	210	13.81	-	5-50ng/ml
	ODS-80Ts	2.0 x 150	J-2	0.15	210	20.85	-	5-50ng/ml
バルプロ酸	Super-ODS	4.6 x 100	J-1	1.5	210	4.68	2ug/ml	50-100ug/ml
	ODS-80Ts	4.6 x 150	J-2	1	210	16.76	-	50-100ug/ml
	ODS-80Ts	2.0 x 150	J-2	0.15	210	23.42	-	50-100ug/ml

精神神経用薬

スルピリド
Super-ODS 4.6 x 100 L 1.5 254 3.93 698ng/ml
ODS-80Ts 2.0 x 150 L 0.2 254 17.25 1.57ug/ml

冠血管拡張薬

ベラパミル
Super-ODS 4.6 x 100 M 1.5 254 1.54 4.28ug/ml
ODS-80Ts 2.0 x 150 M 0.2 254 11.64 2.5ug/ml

抗てんかん薬

スルチアム
Super-ODS 4.6 x 100 J-1 1.5 210 1.67 -
ODS-80Ts 4.6 x 150 J-2 1 210 5.65 -
ODS-80Ts 2.0 x 150 J-2 0.15 210 10.52 -

p-HPPH

Super-ODS 4.6 x 100 J-1 1.5 210 2.28 30ng/ml
ODS-80Ts 4.6 x 150 J-2 1 210 6.88 -
ODS-80Ts 2.0 x 150 J-2 0.15 210 12.3 -

ニトラゼパム

Super-ODS 4.6 x 100 J-1 1.5 210 3.33 13ng/ml
ODS-80Ts 4.6 x 150 J-2 1 210 11.97 -
ODS-80Ts 2.0 x 150 J-2 0.15 210 19.23 -

ジアゼパム

Super-ODS 4.6 x 100 J-1 1.5 210 4.96 -
ODS-80Ts 4.6 x 150 J-2 1 210 18.18 -
ODS-80Ts 2.0 x 150 J-2 0.15 210 24.32 -

* p-HPPH ; 5-(p-ヒドロキシフェニル)-5-フェニルヒダントイン

溶離液

A; 20 mM sodium phosphate (pH 2.5)/acetonitrile = 72 / 28
B; 20 mM sodium phosphate (pH 2.5)/acetonitrile = 95 / 5
C; 20 mM sodium phosphate (pH 2.5)/acetonitrile = 75 / 25
D; 50 mM potassium phosphate (pH 2.5)/acetonitrile = 90 / 10
E; 50 mM potassium phosphate (pH 2.5)/acetonitrile = 95 / 5
F; 50 mM potassium phosphate (pH 2.5)/acetonitrile = 98 / 2
G; water/acetonitrile = 85 / 15
H; water/methanol/glacial acetic acid = 54 / 45 / 1
I; (a): water/acetonitrile = 91/9, (b): water/acetonitrile = 70 / 30
I-1: 0 min (b:0%), 2.5 min (b:100%), step gradient I-3: 0 min (b:0%), 10 min (b:100%), step gradient
I-2: 0 min (b:0%), 11 min (b:100%), step gradient
J; (a): 20 mM sodium phosphate (pH 2.5)/acetonitrile = 80 / 20
(b): 20 mM sodium phosphate (pH 2.5)/acetonitrile = 30 / 70
J-1: 0 min (b:0%), 1.25 min (b:30%), 2.5 min (b:30%), 6.25 min (b:100%), linear gradient
J-2: 0 min (b:0%), 5 min (b:30%), 10 min (b:30%), 25 min (b:100%), linear gradient
K; 20 mM sodium phosphate (pH 2.5)
L; 20 mM sodium phosphate (pH 2.5)/acetonitrile = 97 / 3
M; 20 mM sodium phosphate (pH 2.5)/acetonitrile = 70 / 30