

高速液体クロマトグラフ質量分析計 LCMS™-8045

USP General Chapter <1469>に準じた トリプル四重極LC-MS/MSによるサルタン系医薬品中 ニトロソアミン類6成分の定量分析

Shailendra Rane*1, Devika Tupe*1, Deepti Bhandarkar*1, S.Saravanan*2 and B.Karthikeyan*2

*1 Shimadzu Analytical (India) Pvt. Ltd., *2 Spinco Biotech Pvt. Ltd.

ユーザーベネフィット

- ◆ USP general chapter <1469>に準じた手法で、5種のサルタン系医薬品におけるニトロソアミン類6成分の定量メソッドを確立しました。
- ◆ LCMS-8045による分析で、USP general chapter <1469>の基準を容易にクリアすることを確認しました。

■はじめに

米国薬局方 (USP) は、オルメサルタン、テルミサルタン、イルベサルタン、ロサルタン、バルサルタンの5つの異なるサルタン系医薬品中のニトロソアミンの定量に関して、General chapter <1469>を収載しました。

本稿では、分析カラムにRaptor ARC-18 (150 mm×3.0 mm×2.7 μm, Restek) を、トリプル四重極質量分析計にLCMS-8045システムを使用して、General chapter <1469>内“procedure 3”のLC/MS/MSによる分析を実施した例をご紹介します。

■実験

ニトロソアミン6成分 (NDMA、NMBA、NDEA、NEIPA、NDIPA、NDBA) を、超高速液体クロマトグラフNexera™ XSおよびトリプル四重極質量分析計 LCMS-8045を使用して分析しました (図1)。

- 卓越した感度 (UFsensitivevity™)
- 30000 u/secの超高速スキャン速度 (Ufscanning™)
- 5 msecの極性切り替え速度 (UFswitching™)

上記の特長を備えたこのシステムは、高い信頼性により高品質なデータを提供します。

測定対象のニトロソアミン6成分はすべて中極性化合物であり、イオン源には大気圧化学イオン化 (APCI) インターフェイスを使用しました。



図1 Nexera™ XS with LCMS™-8045 system

■分析条件

ニトロソアミン6成分および内部標準物質4成分の分析条件を表1、2に示しました。

また、代表的なクロマトグラム (MRM、UV) を図2に示しました。LC-MSの原薬による汚染防止のため、UVクロマトグラムに基づいて原薬はダイバードバルブにて除き、残りをLC-MSへ導入しました。

表1 MRM transitions of nitrosamines

MRM Transitions			
Nitrosamine	Acquisition Mode	Polarity	MRM (Quantifier, Qualifier)
NDMA	MRM	Positive	75>43,75>44
NDMA-d6	MRM	Positive	81>46,81>64
NMBA	MRM	Positive	147>44,147>117
NMBA-d3	MRM	Positive	150>47,150>120
NDEA	MRM	Positive	103>75,103>47
NDEA-d10	MRM	Positive	113>34,113>49
NEIPA	MRM	Positive	117>75,117>45
NDIPA	MRM	Positive	131>89,131>47
NDBA	MRM	Positive	159>41,159>29
NDBA-d18	MRM	Positive	177>66,177>46

表2 分析条件

HPLC System	: Nexera XS
Column	: Raptor ARC-18 (150 mm×3.0 mm×2.7 μm, Restek)
Column Oven	: 60 °C
Mobile Phases	: A - 0.1% Formic acid in Water B - 0.1% Formic acid in Methanol
Flow Rate	: 0.5 mL/min
Gradient program (B%)	: 0-1.5 min →3(%); 1.5-4 min →3-50(%); 4-7 min →50-75 (%); 7-8.1 min →75-85(%); 8.1-9.2min →85-95(%); 9.2-12 min →95 (%); 12-12.1 min →95-3 (%); 17 min →STOP
Injection Volume	: 20 μL
LCMS System	: LCMS-8045 (APCI)
Temperature	: Interface: 270 °C Desolvation Line: 220 °C Heater Block: 220 °C
Gas Flow	: Nebulizing Gas: 3 L/min Drying Gas: 3 L/min

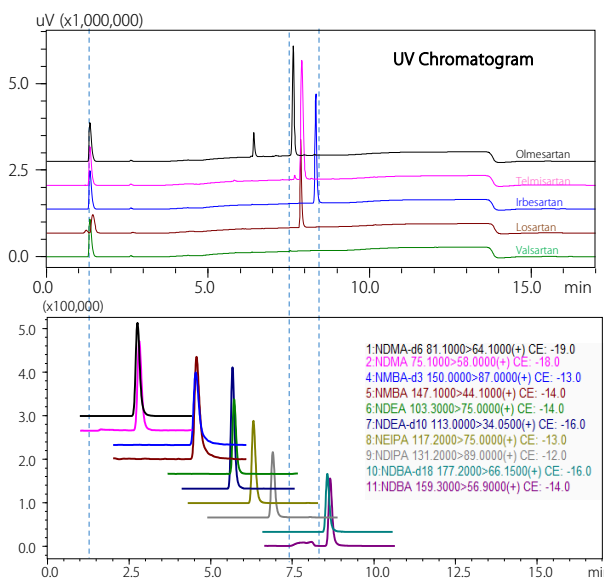


図2 原薬のUVクロマトグラムとニトロソアミン6成分の代表的なMRMクロマトグラム

■ニトロソアミン類の直線性

ニトロソアミン6成分について、1%塩酸水溶液をサンプル溶媒として9点の検量線用標準試料を調製しました。図3に各ニトロソアミンの検量線、各濃度を重ね描きしたクロマトグラム、定量下限値のクロマトグラムを示しました。なお、検量線は表3に示した内部標準物質を用いた内部標準法により作成しました。

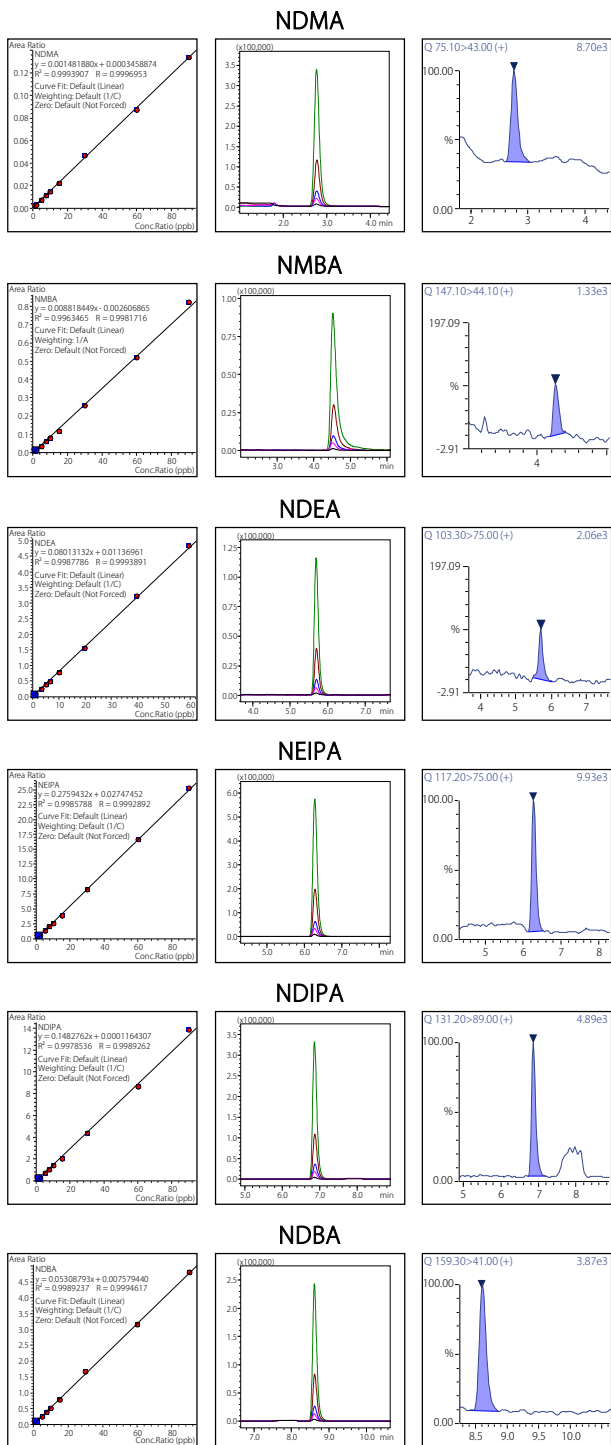


図3 ニトロソアミンの検量線、検量線用標準試料の重ね描きおよび定量下限付近のクロマトグラム

検量線範囲、%RSDおよびS/Nにより確認した定量下限値を表3にまとめました。

表3 検量線情報のまとめ

Comp.	IS	Calibration range (ppb)	R ²	LOQ		
				Conc. (ppb)	%RSD (n=6)	S/N
NDMA	NDMA-d6	1.33 to 90	0.999	1.33	2.68	25.34
NMBA	NMBA-d3		0.998		15.66	15.08
NEIPA	NDEA-d10		0.999		10.3	40.19
NDIPA	NDEA-d10		0.998		1.85	90.03
NDBA	NDBA-d18		0.999		3.66	89.85
NDEA	NDEA-d10		0.66 to 59.4		0.999	0.66

■実サンプルの分析

医薬品原薬80 mgを2 mLの遠沈管に量りとり、1188 μLの抽出溶媒と12 μLの内部標準溶液を添加しました。ロサルタン以外はボルテックスミキサーを用い2500 rpmで20分間攪拌しました（ロサルタンのみ5 min以内）。これを、遠心分離機により10000 rpmで10分間遠心分離しました。この上清を、孔径0.22 μmの親水性PTFEフィルターでろ過し、LCMS分析用試料としました。最終的な医薬品濃度は66.6 mg/mLとなり、添加回収試験のために添加したニトロソアミン濃度と添加回収率は表4の通りでした。

表4 定量下限レベルにおける5種のサルタン系医薬品中のニトロソアミン添加回収試験結果

% Recovery at 0.03ppm for 5 NSAs and 0.014ppm for NDEA					
Name	Olmesartan	Telmisartan	Irbesartan	Losartan	Valsartan
NDMA	90.7	86.9	114.2	95.7	92.1
NMBA	117.7	114.5	108	112.6	118.7
NEIPA	94.5	93.7	94.4	93.7	93.7
NDIPA	100.7	105.5	98.0	81.4	86.1
NDBA	104.5	110.5	115.2	108.7	111.8
NDEA	71.8	73.2	99.6	77.1	86.8

Note: Criteria for % Recovery as per USP <1469> is 70 to 130 %.

■結論

- USP general chapter <1469> procedure 3 に準拠したニトロソアミン6成分の定量について、5種のサルタン系医薬品に対して、LCMS-8045システムにて実施可能であることが確認されました。
- 内部標準法により、ニトロソアミン6成分全てに対し9点での直線性を確認しました。
- 相関係数は、ニトロソアミン6成分全てで0.998以上となりました。
- 定量下限値レベルにおける再現性 (%RSD, n=6) は、20%未満でした。
- 添加回収試験は、5種のサルタン系医薬品全てについて定量下限値レベルで実施し、USP <1469> の許容基準 70~130%を満たすことが確認されました。

Nexera, LCMS, Ufsensitivity, Ufscanning, およびUfswitchingは、株式会社島津製作所またはその関係会社の日本およびその他の国における商標です。

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

06-SAIP-082-LC-041-JP 初版発行：2021年8月

島津コールセンター ☎ 0120-131691

本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。本文中では「TM」、「®」を明記していません。

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。

最新版は、島津製作所>分析計測機器の以下のサイトより閲覧できます。

<https://www.an.shimadzu.co.jp/apl/index.htm>

会員情報サービス Shim-Solutions Club に登録いただきますと、毎月の最新情報をメールでご案内します。

新規登録は、<https://solutions.shimadzu.co.jp/> よりお願いします。

© Shimadzu Corporation, 2021