

高速液体クロマトグラフ質量分析計 LCMS™-2050

シングル四重極質量分析計を用いた
アトルバスタチン中の不純物解析

小寺澤 功明、向畑 和男、遠山 敦彦

ユーザーベネフィット

- ◆ LCMS-2050を用いると、医薬品中に含まれる主成分、不純物の分子量情報が簡単に得られます。
- ◆ UV検出器のクロマトグラムに質量情報を重ねて表示する機能により、結果を直感的に一覧できます。
- ◆ インソースCIDにより、LC/MS/MSを用いることなく化合物の構造推定を行うことができます。

■はじめに

医薬品の原薬中には、主成分以外に副反応生成物や未反応残渣、分解物などの不純物が微量に含まれます。ICH-Q3に規定されている閾値以上に不純物が含まれる場合、その構造や安全性を確認する必要があります。純度確認には一般にHPLC-UV法が用いられますが、不純物が検出された場合には既知の不純物であるか否かの確認が求められるため、質量分析計をさらに接続して分子量情報を得る分析が有効です。質量分析計は、未知不純物が見つかった場合に構造解析を行うためにも必要とされます。

本報告では、高速液体クロマトグラフ質量分析計LCMS-2050を用いて不純物を含む医薬品を分析した例をご紹介します。吸光度検出器のデータに自動で質量情報を追加し、簡便なピーク同定が可能な点、更に、インソースCIDを用いて不純物の解析・同定を行える点を示します。

■分析条件と試料

医薬品試料として、市販されているアトルバスタチンカルシウム（純度≥98%、図1）を溶解し、1 mg/mLの溶液を調製しました。アトルバスタチンの不純物情報はEP10.4を参照しました。

分析には、図2に示すNexera™シリーズとLCMS-2050を組み合わせたシステムを使用しました。分析条件を表1、表2に示します。

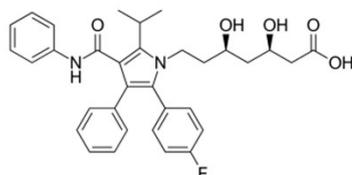


図1 アトルバスタチン構造式



図2 Nexera™, LCMS™-2050システム

表1 LC分析条件

System	: Nexera XR
Column	: Shim-pack™ XR-ODS *1 (50 mm x 2.0 mm I.D., 2.2 μm)
Mobile phases	: A: 10 mM ammonium acetate aq. B: Acetonitrile
Flow rate	: 0.3 mL/min
Gradient	: B.Conc 10 % (0-2 min) →30 % (4-6 min) →100 % (20 min)
Colum temperature	: 40 °C
Injection volume	: 1 μL
Detection	: PDA 190-800 nm

*1 P/N : S228-41605-92

表2 MS分析条件

Ionization	: ESI/APCI (positive mode)
Mode	: SCAN (m/z 100-1000)
Nebulizing gas flow	: 2.0 L/min
Drying gas flow	: 5.0 L/min
Heating gas flow	: 7.0 L/min
DL temperature	: 200 °C
Desolvation temperature	: 450 °C
Interface voltage	: 3.0 kV
Qarray voltage	: 20/120V

■LCの分析結果

本システムを用いてアトルバスタチンカルシウム溶液を分析し、得られたUVクロマトグラムを図3に示しました。約10.5分に主成分であるアトルバスタチンが溶出しており、その前後に複数の不純物ピークを検出しました。

このUVクロマトグラムには、LCMS-2050から得られた質量情報が保持時間に合わせてオーバーレイ表示されています（Mass-it™機能）。主成分と不純物の質量情報を直感的に一覧できるほか、UV吸収の低い隠れた成分の有無を簡便に確認することができます。

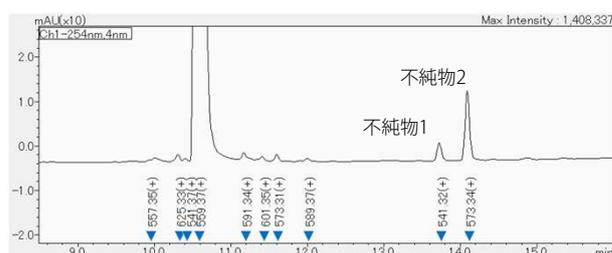


図3 アトルバスタチンのUVクロマトグラムと質量情報

■ MS分析結果

UVクロマトグラムで、主成分の面積値に対して0.10%以上の面積値を示すピークを不純物1、2とします（不純物1：0.20%、不純物2：0.78%）。この2成分は、LCMS-2050で得られたTICクロマトグラム（図4）においても、顕著なピークとして検出されました。

不純物1、2の溶出時間帯に得られた平均マスペクトルを図5に示します。このマスペクトルの結果から、各不純物の分子量や共溶出の有無を推定することが可能です。

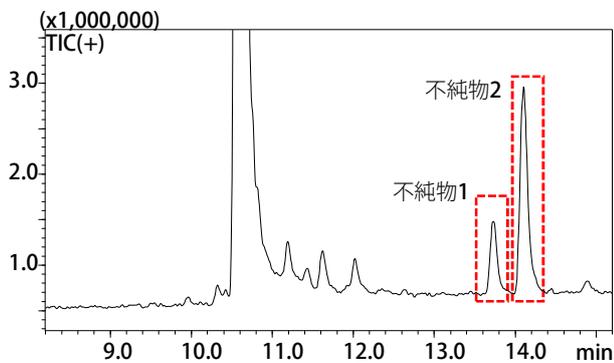


図4 アトルバスタチンのTICクロマトグラム

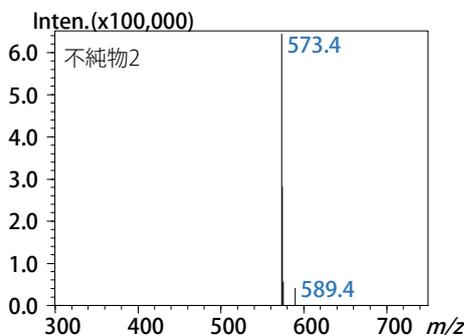
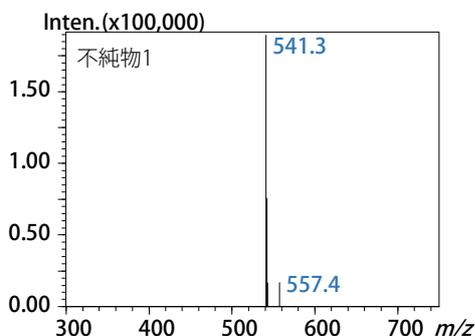


図5 アトルバスタチン中の不純物1,2のマスペクトル

■ インソースCIDによる構造解析

LCMS-2050ではQarray電圧を高く設定することにより、イオン源内で意図的に分子を分解させること（インソースCID）で、分子量情報だけでなく分子構造情報を得ることができます。分解されたイオンをフラグメントイオンと呼びます。

上記の2つの不純物に対して、インソースCIDによって得られたマスペクトルを図6、8に示します。それぞれの不純物のフラグメントイオンとACD/Labs社MS Workbook Suiteソフトウェアにより推定された開裂部位から、EP10.4に記載されている不純物の内、不純物1が不純物H、不純物2が不純物Gであることが示唆されました。（図7、9、表4、5）

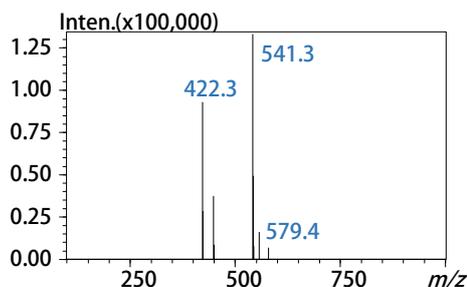


図6 不純物1のインソースCID時のマスペクトル

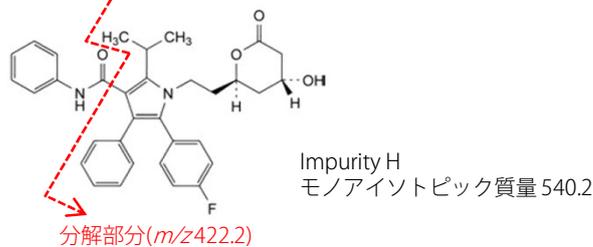


図7 不純物Hの構造式及び推定されるフラグメント

表4 不純物Hのプロトン付加分子、フラグメントイオンの理論値と実測値

測定されたイオンの分子式	理論値	実測値
プロトン付加分子：C33H34FN2O4 (+)	541.3	541.3
フラグメントイオン：C26H28FN03 (+)	422.2	422.3

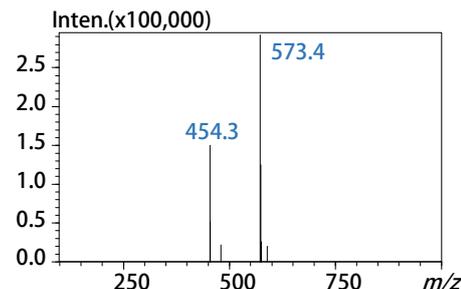


図8 不純物2のインソースCID時のマスペクトル

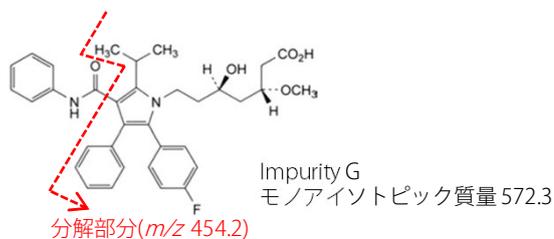


図9 不純物Gの構造式及び推定されるフラグメント

表5 不純物Gのプロトン付加分子、フラグメントイオンの理論値と実測値

測定されたイオンの分子式	理論値	実測値
プロトン付加分子：C34H37FN2O5 (+)	573.3	573.4
フラグメントイオン：C27H32FN04 (+)	454.2	454.3

■ まとめ

液体クロマトグラフ質量分析計LCMS-2050を用いた医薬品中に含まれる主成分、不純物の分析例を示しました。各成分の質量情報が得られるだけでなく、UV検出器のデータに質量情報を自動で追加する機能により、分析結果の全体像が一目で把握できる事を示しました。さらに、インソースCIDにより不純物成分の構造を推定する事ができました。

Nexera、LCMS、Shim-pack および Mass-it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。

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

01-00261-JP 初版発行：2022年2月

島津コールセンター ☎ 0120-131691

▶ アンケート

関連製品 一部の製品は新しいモデルにアップデートされている場合があります。



▶ LCMS-2050
シングル四重極質量分析計

関連分野

▶ 低分子医薬品

▶ 価格お問い合わせ

▶ 製品お問い合わせ

▶ 技術お問い合わせ

▶ その他お問い合わせ