Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

Xevo TQDを用いた遺伝毒性不純物の定量法

目的

装置セットアップや分析メソッド開発を容易にするツールと共に極性の高速切替を活用したXevo TQDを用いることで、遺伝毒性不純物の迅速分析と感度向上を達成できることを証明します。

ソリューション

Xevo® TQD

キーワード

RADAR™、IntelliStart™
遺伝毒性、不純物

はじめに

アルキルスルホン酸類の中でも特に、メタンスルホン酸、ベンゼンスルホン酸、p-トルエンスルホン酸は、触媒として医薬品企業や原薬の化学合成過程において使用される共通のアルキル化試薬です。加えてこれらのスルホン酸は、化学的特性の改善やバイオアベイラビリティ向上を目的とした塩の形成に用いられます。

合成反応や再結晶化段階からの残留アルコールが、スルホン酸のアルキルエステル形成をもたらす可能性があります。これらのメシレート、ベシレート、トシラートエステルの多くは、製剤原料や製剤のモニタリングを必要とするような遺伝毒性があることが知られています。

アルキルスルホン酸エステルの分析メソッドは、誘導体化をした上で20～30分の分析時間を要するGC/MSやUPLC/UV/MSを活用するのが従来法ですが、ここでは5分以内で非常に良い結果をもたらすUPLC/MSを用いた分析例をご紹介します。

ポジティブイオンとネガティブイオンモードの高速切替測定であっても、Xevo TQDは高感度で遺伝毒性不純物を迅速に分析できます。またRADARモードを用い、マトリックス効果を低減した分析メソッド開発のプロセスをスピードアップすることもできます。

実験

LC条件

LCシステム:	ACQUITY UPLC
カラム:	ACQUITY UPLC HSS T3 カラム, 2.1 x 50 mm, 1.8 µm
カラム温度:	45 ℃
注入量:	15 µL (20 µL ループ、パーシャルループモード)
移動相A:	98 H_2O 2% MeOH 0.1% Formic acid
移動相B:	98 MeoH 2% H_2O 0.1% Formic acid

グラジエント

時間（分）	流速	%A	%B	Curve
Initial	0.600	95.0	5.0	
2.50	0.600	2.0	98.0	6
3.00	0.600	2.0	98.0	6
4.00	0.600	95.0	5.0	1
4.50	0.600	95.0	5.0	1

ネガティブイオンモード

キャピラリー電圧: 0.8 kV

ファンクション: MRM of 3チャンネル

モニターイオン	コーン電圧	コリジョン電圧	化合物
95.00 > 79.90	40.0	15.0	メタンスルホン酸
157.00 > 79.90	45.0	24.0	ベンゼンスルホン酸
171.00 > 79.90	48.0	26.0	トルエンスルホン酸

ポジティブイオンモード

キャピラリー電圧: 0.5 kV

モニターイオン	コーン電圧	コリジョン電圧	化合物
173.10 > 77.00	25.0	16.0	メチルベンゼンスルホン酸塩
187.00 > 77.00	25.0	22.0	エチルベンゼンスルホン酸塩
187.00 > 155.00	30.0	10.0	メチルp-トルエンスルホン酸塩
201.00 > 173.00	25.0	10.0	エチルp-トルエンスルホン酸塩
229.10 > 91.00	40.0	20.0	2Sグリシジルトシレート

結果と考察

遺伝毒性不純物の標準溶液をアセトニトリルに溶解した1 mg/mLの溶液を、5%アセトニトリル水溶液で希釈し0.1から500 ng/mLの濃度に調整しました。そして、10 mgのアムロジピンベシレート錠を粉砕後、溶解し1.5 µg遺伝毒性不純物をスパイクしました。

IntelliStartを用いたMS条件の最適化に個々の標準溶液を用いて行いました。

最高峰の分離性能を有したクロマトグラフィーでさえも同時溶出が起こることがあるため、定量分析（MRM）と同時にマトリックス由来の情報が得られるMSスキャンデータ取得により、分析の堅牢性や再現性を高めながら、潜在的な干渉化合物のモニタリングを行います。

RADARモードを用いるとポジティブイオンモードとネガティブイオンモードの両方において、MRMとMSスキャンの両方のデータを同時取得できます。この時MRMデータの品質を損なうことなく同時取得されます。この結果、装置はサンプル由来のマトリックス化合物をモニターし続けターゲット化合物を高精度に定量できるため、サンプルのより深い情報を得ることができます。

RADARモードは性能を妥協することなくMS、MS/MS、ポジティブ及びネガティブイオンモード間の高速切替ができる機能を搭載したXevo TQD（Xevoファミリを含む）だけができる機能です。

RADARはスパイクされた錠剤溶液における不純物の分析を行うにあたって、LC/MS/MSの分析メソッド開発を支援します。今回の遺伝毒性不純物を測定するために必要な直線性や感度を得るための分析メソッドもこのモードを用いて開発しました。

LC/MS/MSのRADARモードを用いた錠剤の不純物における分析メソッド開発を図1に示します。

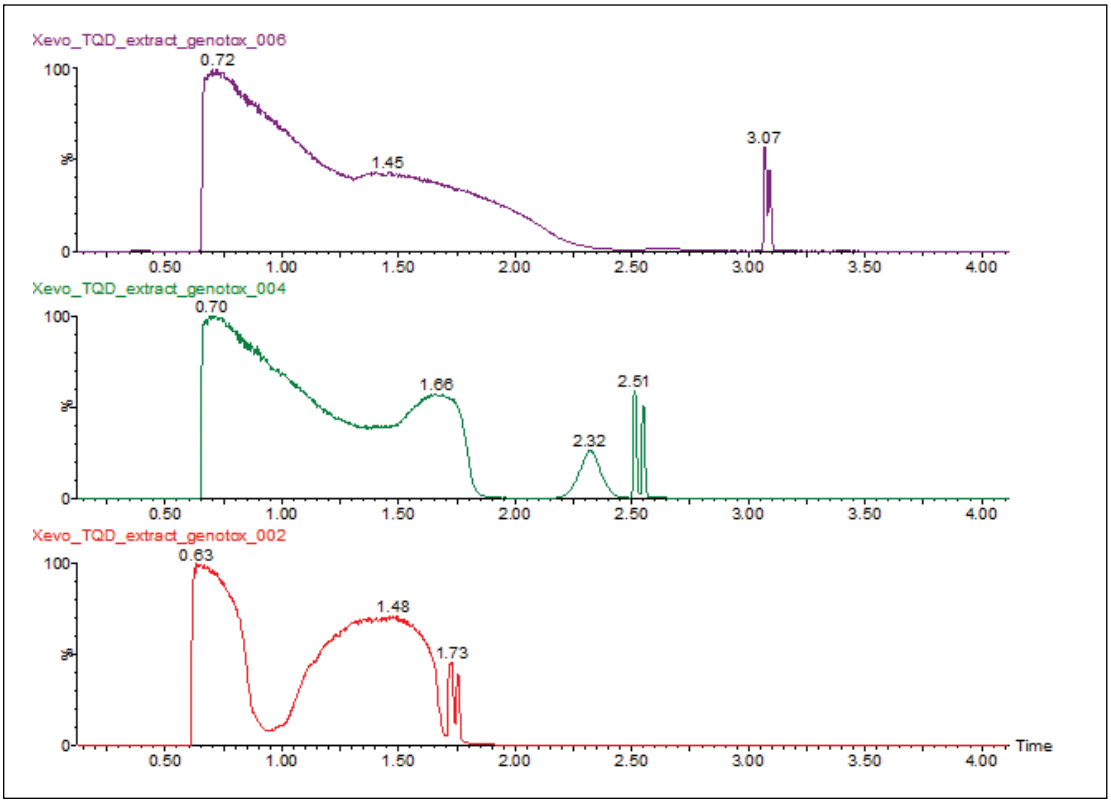

図1. Xevo TQDのRADARモードを用いて開発されるメソッド

0.1から500 ng/mLの範囲におけるトルエンスルホン酸の直線性を図2に示します。

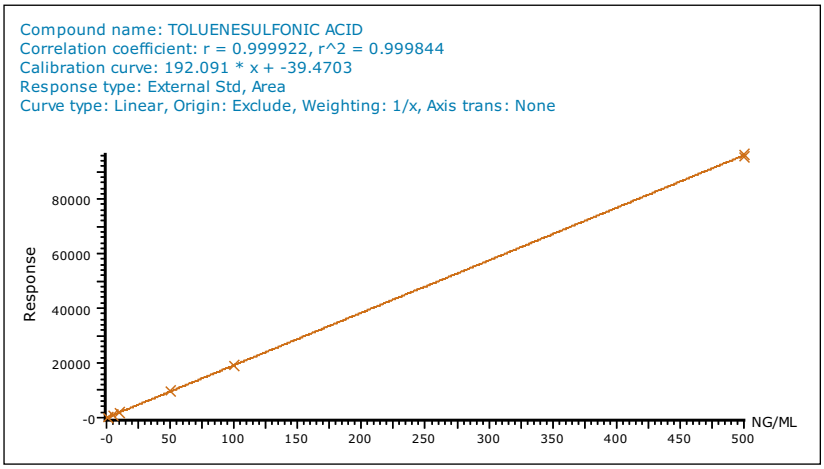

図2. トルエンスルホン酸の直線性

0.1 ng/mLのメタンスルホン酸のクロマトグラムを図3に、グリシジルトシレートのクロマトグラムを図4に示します。

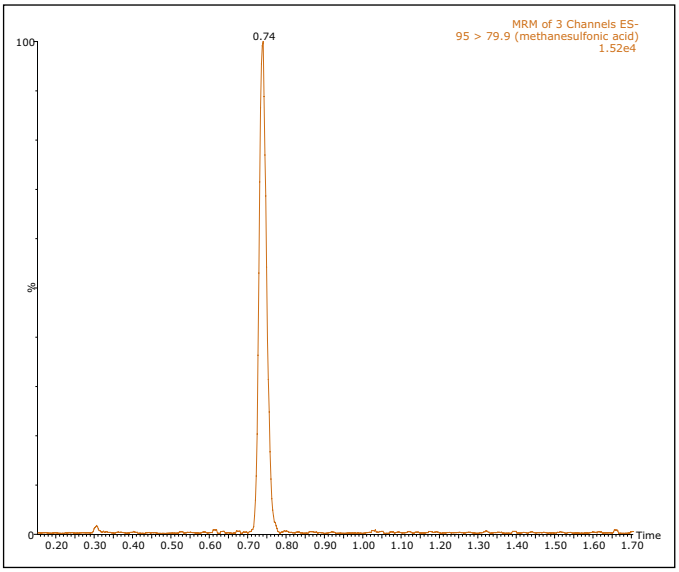

図3. 0.1 ng/mLのメタンスルホン酸

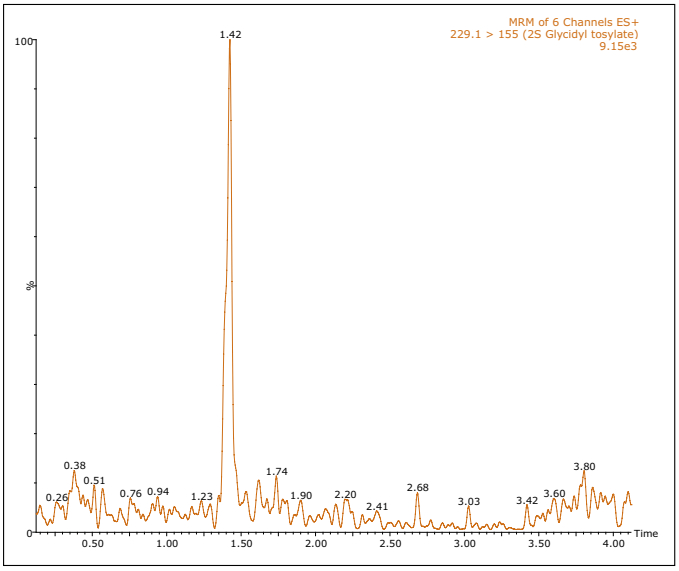

図4. 0.1 ng/mLのグリシジルトシレート

結論

UPLCと接続するタンデム四重極MSのXevo TQDは遺伝毒性の分析に拡張的な機能を活用することができます。つまりポジティブイオン／ネガティブイオンの高速切替を実行する「全てのデータを全ての時間」においてデータ取得できるIntelliStartやRADARモードを用いることで、高感度でありながら迅速で容易なメソッド開発ができるようになります。より科学的で法規制の要求が増す中、このシステムを用いればラボの生産性を改善することに繋がります。

適用規格:JISQ9001:2008(ISO9001:2008)
登録番号:JMAQA-331 登録日:1999年05月31日
審査登録範囲:理科学機器(液体クロマトグラフ・質量分析装置・データ管理システム等)の輸入・販売から保守業務までのトータルサポート及び保守プランの設計・開発

このISO9001認証登録ロゴは、Waters Corporationのものです。

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

日本ウォーターズ株式会社 www.waters.co.jp
東京本社 〒140-0001 東京都品川区北品川1-3-12第5小池ビル TEL 03-3471-7191 FAX 03-3471-7118
大阪支社 〒532-0011 大阪市淀川区西中島5-14-10サムティ新大阪フロントビル11F TEL 06-6304-8888 FAX 06-6300-1734
ショールーム 東京 大阪
テクニカルセンター 東京 大阪 名古屋 福岡 札幌

Waters、UPLC、ACQUITY UPLC および Xevo は Waters Corporationの登録商標です。RADAR、IntelliStart および The Science of What's Possibleは Waters Corporationの商標です。その他すべての登録商標はそれぞれの所有者に帰属します。

©2011 Waters Corporation. Produced in Japan. 2011年10月 720004012JA PDF