

Poster Reprint

ASMS 2020
TP343

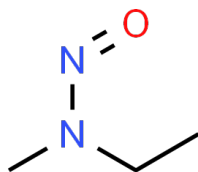
SPE-QQQ による ニトロソアミンの超高速分析

Kevin Truempi, Kevin McCann
Agilent Technologies, Santa Clara, CA

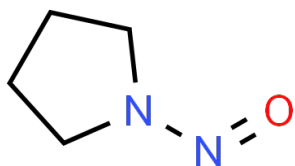
はじめに

ニトロソアミン分析では質量分析計を用いたいくつかの高感度定量メソッドが開発されています。¹しかし、これらのメソッドは、1 サンプルあたり数分の分析時間を要するクロマトグラフィー分離を必要とします。不純物の高速かつ堅牢なスクリーニングと定量は、さまざまなラボにおいて必要不可欠な分析ツールとなっています。ハイスループット環境では、こうした分析において高い生産性で、コストを最小限に抑えて、大量のサンプルを処理する方法で実行できなければなりません。固相抽出トリプル四重極質量分析計（SPE-QQQ）を用いることで、分析の正確さをある程度維持しつつ、超高速のサンプル分析が可能になります。

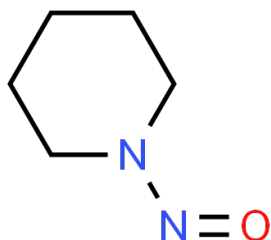
この研究では、1 注入あたり 15 秒未満でニトロソアミン類の同時定量について検討を行いました。米国食品医薬品局（FDA）の既存の分析メソッド²を再現し、さらに他のニトロソアミンを追加して、ニトロソアミン類分析の拡張の実行可能性と容易さを評価しました。



N-ニトロソエチルメチルアミン（NMEA）



N-ニトロソピロリジン（NPyR）



N-ニトロソピペリジン（NPIP）

<https://www.chemspider.com/>

図 1. FDA の ニトロソアミン不純物分析を RapidFire メソッドへ追加する概念の証明として 3 種のニトロソアミンを分析しました。

実験方法

装置構成

この SPE-QQQ 分析には、RapidFire ハイスループット質量分析システムと Ultivo トリプル四重極 LC/MS を組み合わせて用いました。オンライン固相抽出（SPE）はグラファイトカーボンカートリッジを用いて実行し、サンプル中の塩やその他の夾雑物からターゲット化合物を分離しました。



図 2. Agilent RapidFire 400 ハイスループット質量分析システムと Agilent Ultivo トリプル四重極 LC/MS の組み合わせ

材料および試薬

ニトロソアミン標準、LC/MS グレードメタノール、ギ酸は、Sigma-Aldrich（セントルイス、ミズーリ州、米国）から購入しました。

メソッド

1 注入あたり 15 秒未満の分析時間を達成するため、トラップ、洗浄、溶出の自動サイクルを最適化しました。

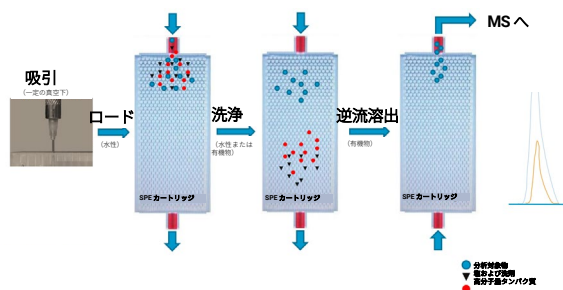


図 3. RapidFire 注入サイクル

装置設定

RapidFire の測定条件

バッファ A：水 + 0.1 % ギ酸
バッファ B：メタノール + 0.1% ギ酸
SPE カートリッジ： グラファイトカーボン、
タイプ D (G9206A)

状態	時間 (ms)
吸引	600
ロード/洗浄	2,000
溶出	7,000
再平衡化	2,000

Ultivo の測定条件

パラメータ	設定値
イオンモード	APCI
極性	ポジティブ
ドライガス温度	300 °C
ドライガス流量	6 L/分
ネブライザ	55 psi
APCI ヒーター	350 °C
APCI ニードル	4 µA
キャピラリー電圧	3,000 V

結果と考察

超高速データ取り込み

注入は 1 サンプルあたり約 12.5 秒で行い、トリプル四重極質量分析計で測定をしました。図 4 は、15 分未満で取り込まれた 72 回の注入を示しています。キャリブレーションレベル間で複数回のブランク注入を行い、キャリーオーバーを評価しました。

再現性と精度に優れた結果

各キャリブレーションの 3 回の注入において、優れた再現性が示されました。NPIP に関しては、変動係数が 4.5～9.0 % の範囲で（図 4）、すべての成分でも同様の結果でした。優れた直線性も得られており、R² は 0.997～0.999 の範囲でした（図 5）。

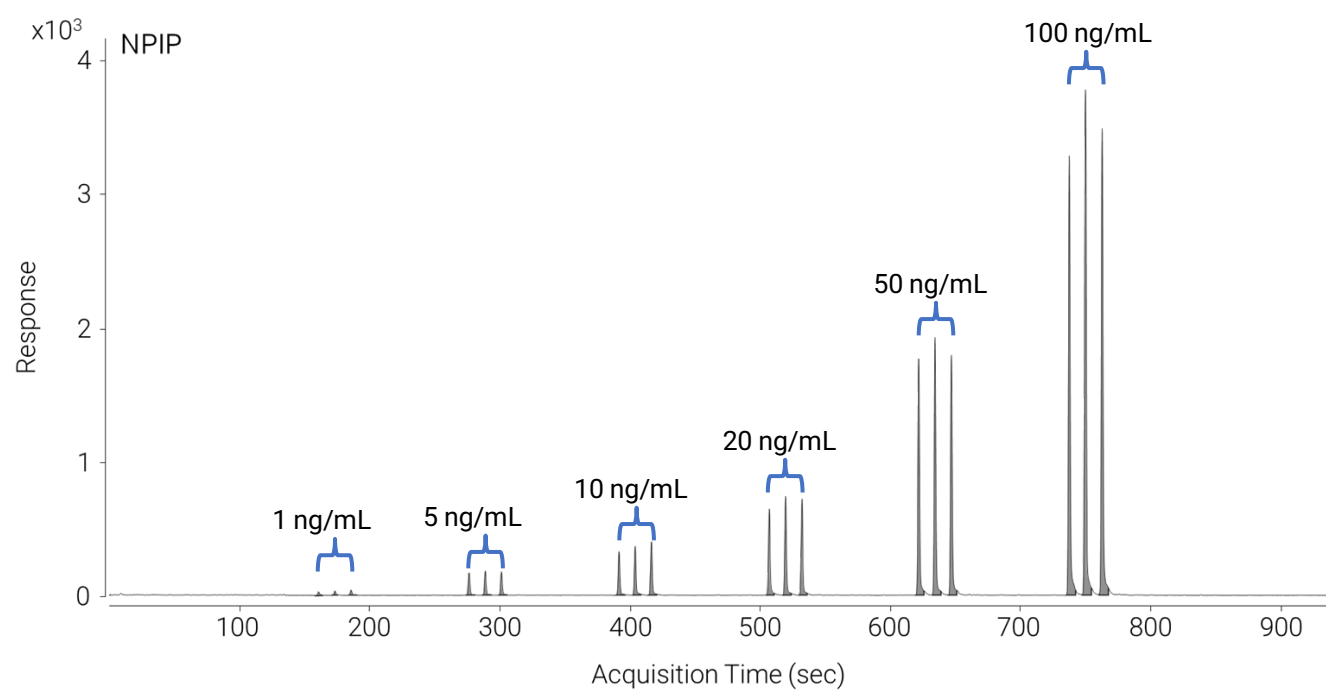


図 4. 3 回の注入における NPIP の 6 点検量線。各キャリブレーションレベル間で 6 回のブランク注入を行い、キャリーオーバーを評価しました。

結果と考察

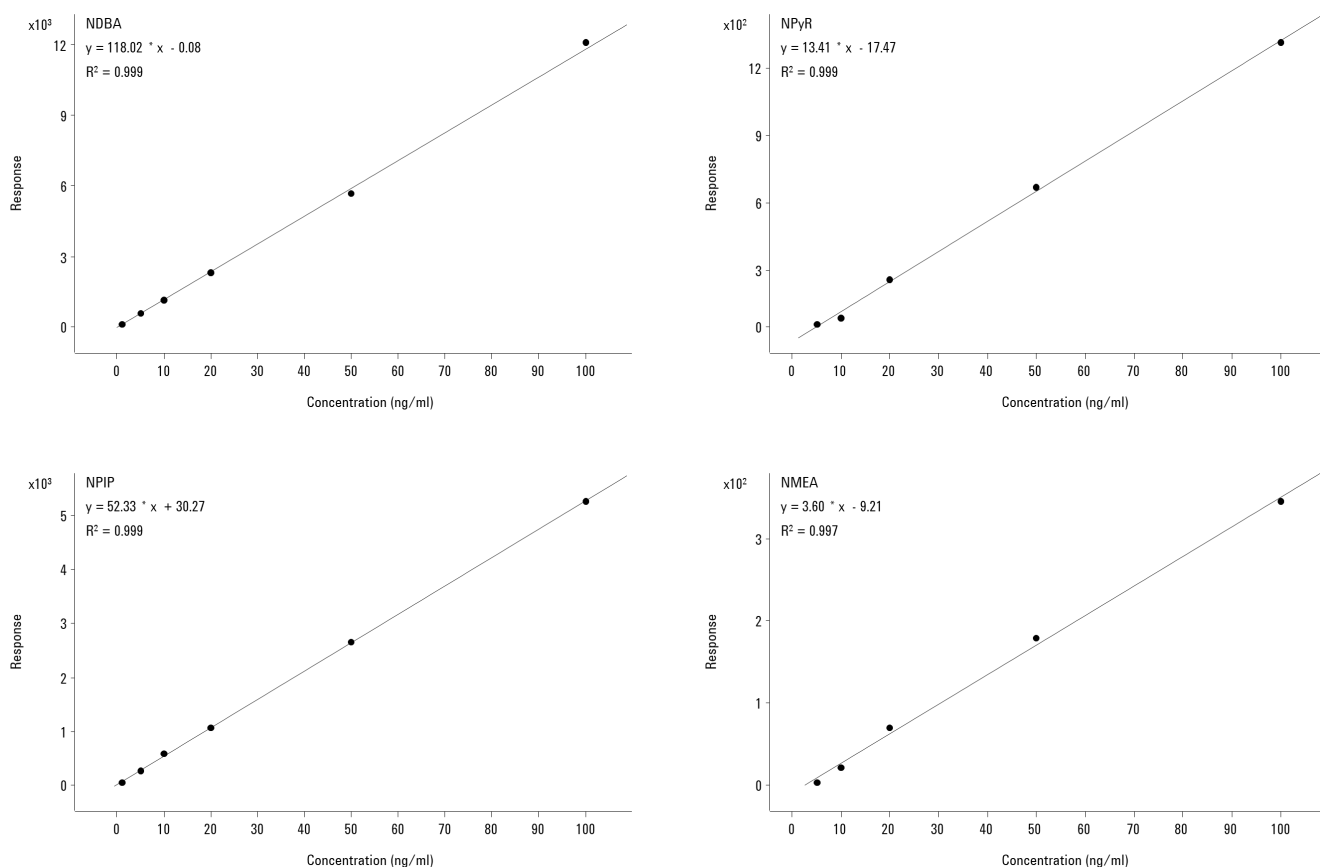


図 5. NDBA と NPIP は 1~100 ng/mL のキャリブレーション。NPyR と NMEA は 5~100 ng/mL のキャリブレーション

結論

米国 FDA のニトロソアミン不純物高速分析メソッドを再現し、一貫性の高い結果が得られました。さらなる概念の証明の研究によって、大幅なメソッド開発をすることなく、他のニトロソアミン成分を簡単に追加できることが示されました。

参考文献

- ¹ FDA Updates and Press Announcements on Angiotensin II Receptor Blocker (ARB) Recalls. (2019, November 13). FDA. Retrieved April 15, 2020. <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/fda-updates-and-press-announcements-angiotensin-ii-receptor-blocker-arb-recalls-valsartan-losartan>
- ² Development and validation of a RapidFire-MS/MS method for screening of nitrosamine carcinogen impurities...in ARB drugs. (2019, July 24). FDA. Retrieved April 15, 2020. <https://www.fda.gov/media/125477/download>
- ³ Information about Nitrosamine Impurities in Medications. (2020, February 3). FDA. Retrieved April 15, 2020. <https://www.fda.gov/drugs/drug-safety-and-availability/information-about-nitrosamine-impurities-medications>