

●不揮発性塩を含む移動相条件下での

LC-MS 精密質量分析

Liquid chromatography-accurate mass measurement under mobile phase containing non-volatile salts

【概要】

LC-MSは、医薬分野や工業分野など、あらゆる産業で活用されている技術であり、構造解析においてもその威力を発揮します。しかし、不揮発性塩を用いた HPLC 条件下では、MS の感度が著しく低下することから、分取精製や不揮発性塩を用いない HPLC 条件の探索を行う必要があります。

そこで当社では、コンベンショナル LC（1次元）で目的成分を分取、プレカラムで濃縮・脱塩を行い、更にマイクロ LC（2次元）で分離後 MS へ導入する技術、Co-Sense for Microanalysis^(*) を用いることにより、不揮発性塩を用いた HPLC 条件下での LC-MS 分析や、極微量成分の LC-MS 分析が可能となりました。これら一連の作業をオンラインで進めることができるため、コンタミネーションも大幅に低減されます。

また、質量分析部には Q-TOF 型を使用しますので、精密質量分析や MSⁿ 分析が可能であり、構造解析に有用なデータが得られます。

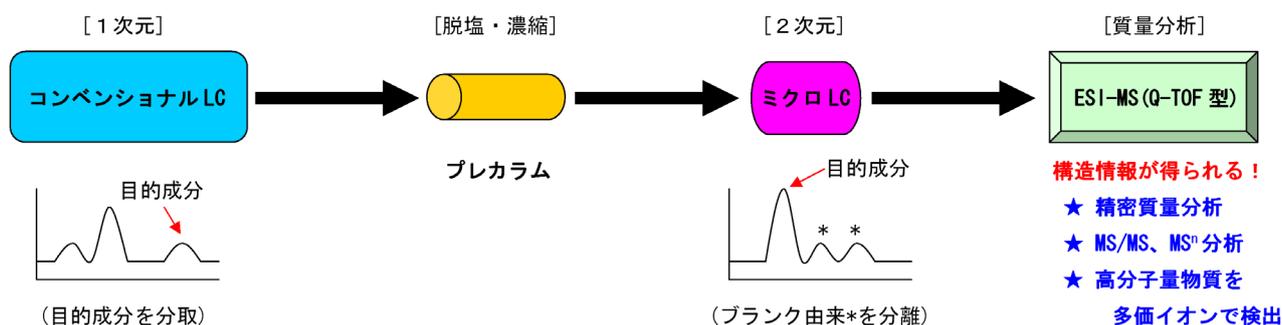
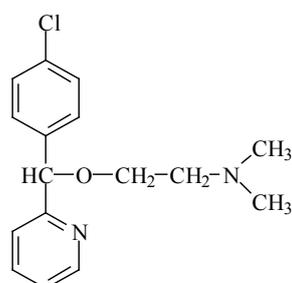


Fig.1 Co-Sense for Microanalysis^(*) による LC-MS 分析の流れ

【事例】 医薬品 A 中の主成分確認分析

医薬品 A ー前処理溶液中の主成分であるマレイン酸カルビノキサミン（化合物 I）を分取し、脱塩・濃縮後、質量分析を行いました。



組成式：C₁₆H₁₉N₂O Cl

M. W. = 290.79

Exact Mass = 290.1186

Fig.2 マレイン酸カルビノキサミン（化合物 I）の構造式

なお、コンベンショナル LC（1次元）では移動相に 10mmol/L 過塩素酸ナトリウム溶液と 10mmol/L 過塩素

*1：住友化学株式会社と株式会社島津製作所で開発された LC-MS 用自動試料前処理システム

酸ナトリウムアセトニトリル溶液を用いたグラジエント条件で目的成分を分取し、マイクロ LC（2 次元）では 0.05% 酢酸水とアセトニトリルのグラジエント条件で目的成分を溶出しました。

Step 1

コンベンショナル LC（1 次元）で約 6 μ g の化合物 I（RT=12.2 分）を分取しました。

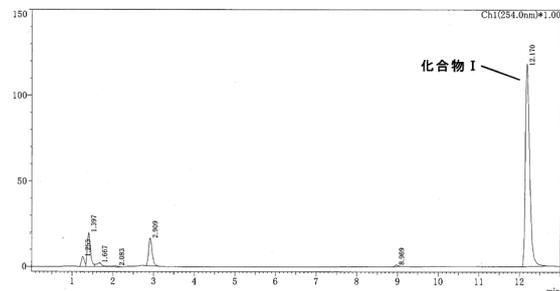


Fig. 3 コンベンショナル LC(1次元)クロマトグラム

Step 2

濃縮した化合物 I を、マイクロ LC（2 次元）で溶出しました。

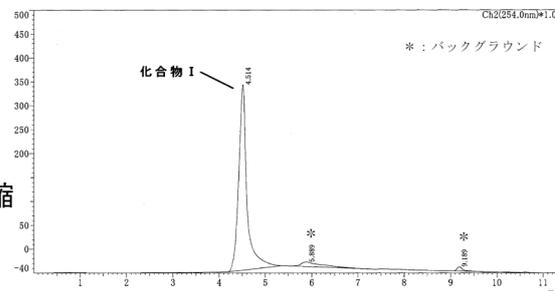
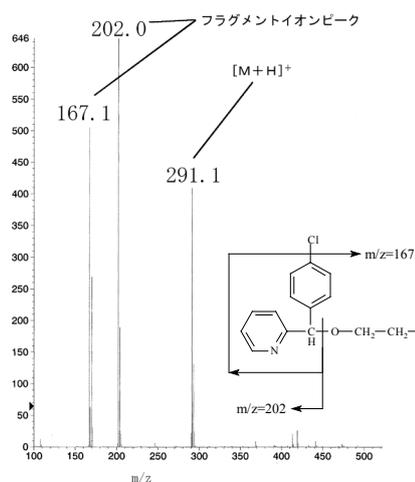


Fig. 4 ミクロ LC(2次元)クロマトグラム

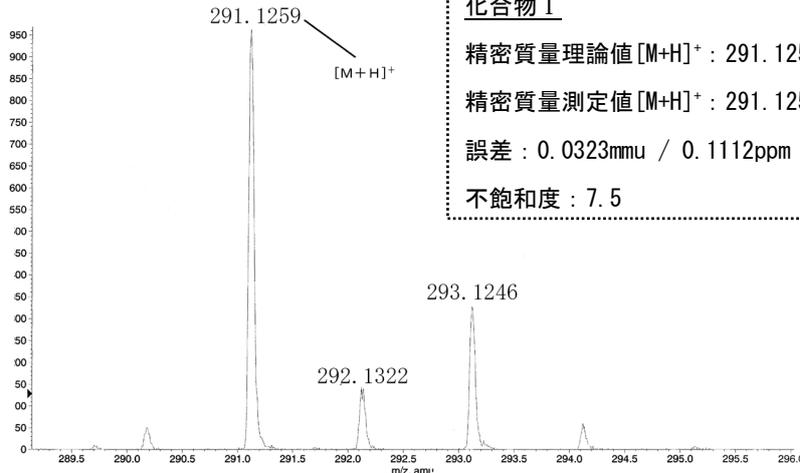
Step 3

マイクロ LC（2 次元）で得た化合物 I を MS へ導入し、MS スペクトルを得ました。その結果、化合物 I のプロトン化分子イオンピーク $[M+H]^+$ 、 $m/z=291$ を検出しました。また、フラグメントイオンピークとして、 $m/z=167$ 、 202 も検出されました。

MS スペクトル



精密 MS スペクトル



化合物 I

精密質量理論値 $[M+H]^+$: 291.1258

精密質量測定値 $[M+H]^+$: 291.1259

誤差 : 0.0323mmu / 0.1112ppm

不飽和度 : 7.5

Fig. 5 マレイン酸カルビノキサミン（化合物 I）の LC-MS 測定結果

過塩素酸ナトリウムのような不揮発塩を含む HPLC 条件でも、良好な MS スペクトルが得られました。また、精密 MS スペクトルより、化合物 I の精密質量理論値 $[M+H]^+$ 、 $m/z=291.1258$ に対して測定値 $[M+H]^+$ 、 $m/z=291.1259$ と、相対誤差がわずかに 0.1112ppm という結果が得られました。よって、化合物 I がマレイン酸カルビノキサミンであることが証明されました。このように、Q-TOF 型質量分析計により、精度の高い精密質量測定が可能です。

[文献] K.Nakai M.Okamoto,K.Yamashita 第 12 回クロマトグラフィー会議 (2001) 79-80
K.Nakai M.Okamoto,K.Yamashita 25thInternational Symposium on Chromatography Abstracts (2004) 100