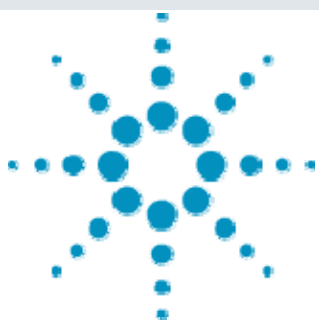




Agilent 6410 による 87 医薬品類の高感度一斉分析



＜要旨＞ 河川水中 PPCPs と総称される医薬品類について LC-MS/MS による高感度分析法を検討しました。その結果、イオン源に ESI を用いることで 87 種類の医薬品類の高感度分析が可能で標準液での検出限界は 1~0.0016ng/mL でした。また、85 医薬品類については河川水 100 倍濃縮液中 1ng/mL 以下での測定が可能で、n=4 での相対標準偏差は 0.66~11.99%と再現性も良好でした。

Key Words: PPCPs、LC-MS/MS、MRM、河川水

1. はじめに

現在、わが国では非常に多くの化学物質が使用されています。特に近年、PPCPs (Pharmaceuticals and Personal Care Products) と総称される医薬品や石鹸などのボディケア用品は製品の廃棄、家畜や人など摂取した生体からの排泄により環境に放出され生態系への影響が懸念されています。これら PPCPs の中には広範囲の製品に使用されている物質や向精神薬などの生理活性の高い物質が多いことから、低濃度であっても生物に対して影響を与える可能性があります。特に最近では LC-MS/MS 法の進歩に伴い米国を中心に環境試料中の PPCPs の報告は多くなされています。そこで本研究では LC-MS/MS 法を用いた 87 種類の医薬品類についての高感度一斉分析法の検討を行いました。

2. 装置及び測定条件

分析条件は表.1 に示した通りです。カラムには逆相系 C18 カラムを使用し、移動相にはアセトニトリル及 0.1% 酢酸/10mM 酢酸アンモニウムを用いたグラジエント溶出で分離の最適化を行いました。また MS 条件はイオン源に ESI を用いた正イオンモードで測定しました。各医薬品類の MRM 条件は表.2 に示した通り、7 time segment で測定を行いました。実試料には河川水を固相抽出法にて 100 倍濃縮した試料を用いました。

3. 結果及び考察

標準溶液での結果は図.1 に各医薬品類の 5ng/mL での MRM クロマトグラムを示しました。また表.3 には 1ng/mL における S/N 比及び S/N=3 で定義した検出限界及び検量線の決定係数(25-1ppb)を示しましたが、検出限界は 1~0.0016ng/mL、決定係数は一部の吸着性の強い化合物で 0.99 以下でしたが 79 の医薬品類で 0.995 以上と良好な結果でした。

表.1 87 医薬品の LC-MS/MS 条件

LC	: Agilent 1200
Column	: ZORBAX Extend C18(100mm,2.1mm,1.8μm)
Mobile phase	: A: 0.1%HCOOH+10mM HCOONH ₄ , B: ACN 10%B---(40min)---70%B
Column temp	: 40°C
Sample volume	: 10μL
Flow rate	: 0.2mL/min
MS	: Agilent 6410 Triple Quadrupole LC-MS
Ionization	: ESI (Positive)
Collision energy	: table 2(N ₂ gas)
Scan range	: m/z 100-900
Drying gas	: 10L/min at 300°C
Nebulizer gas	: 345kPa
Fragmentor	: 100V
Vcap	: 4000V

表.2 87 医薬品類の MRM 条件

No	PPCPs	Q1	Q3	CE	No	PPCPs	Q1	Q3	CE
1	Glicoline	489	264	20	45	Mepirizole	235	220	20
3	Terbutaline	226	152	15	46	Amoxicillin	367	160	15
2	Salbutamol	240	148	20	47	Sulfamethoxine	311	156	20
4	Atenolol	267	145	25	48	(±)-Proparanolol	260	183	20
5	Sotalol	273	255	10	49	Dextromethorphan	272	215	25
6	Carbazochrome	237	220	5	50	Ifenprodil	326	308	20
7	Sulgride	342	112	25	51	Prednisolone	361	343	5
8	Acetaminophenol	152	110	15	52	Tilmicosin	435.4	695.5	15
9	Theophylline	181	124	20	53	Difenidol	310	292	15
10	Ampicillin	350	106	10	54	Nalidixic acid	233	215	15
11	2-Quinoxalinecarboxylic acid	175	129	15	55	Flavoxate	392	112	20
12	Acetazolamide	223	181	10	56	diltiazem	415	178	20
13	Caffeine	195	138	20	57	Dipyridamole	505	429	55
14	Scopolamine	304	138	25	58	Erythromycin	734.5	158	30
15	Pirenzepine	352	113	20	59	Carbamazepine	237	194	20
16	Pindolol	249	116	15	60	Promethazine	285	86	20
17	Trimethoprim	291	230	25	61	Haloperidol	376	165	25
18	Norfloxacin	320	302	20	62	Fenitoin	253	182	20
19	Ofloxacin	362	318	20	63	Methoxsalen	217	174	30
20	Thiamphenicol	373	308	20	64	Isopropylantipyrene	231	189	20
21	Oxytetracycline	461	426	20	65	Imipramine	281	86	20
22	Sulfadiazine	279	186	20	66	Amitriptyline	278	233	20
23	Tetracycline	445	410	20	67	verapamil	455	165	30
24	dano floxacin	358	340	25	68	Kitasamycin	772	174	35
25	Antipyrine	189	56	35	69	Diethyl-m-toluamide	192	119	20
26	Metoclopramide	300	227	20	70	Chlorpromazine	319	86	20
27	Primidone	219	162	10	71	Clarithromycin	748.5	198	20
28	Sulfamonomethoxine	281	156	15	72	Tolbutamide	271	74	10
29	Glenbuterol	277	203	15	73	Troleandomycin	772	158	30
30	(±)-Metoprolol	268	116	20	74	Griseofulvin	353	165	20
31	Sarafloxacin	386	368	25	75	Bezafibrate	362	316	15
32	Pentaxifyline	279	181	20	76	Ketoprofen	255	209	10
33	Sulfamethoxazole	254	156	15	77	Naproxen	231	185	15
34	NeospiramycinI	350.2	174	15	78	Josamycin	828	174	35
35	Disopyramide	340	239	20	79	Crotamiton	204	69	20
36	Chlortetracycline	479	444	20	80	spiro lactone	434	341	20
37	Ethenzamide	166	149	5	81	Fenoprofen	260	197	15
38	Bromovalerylurea	223	180	10	82	Diclofenac	296	215	20
39	Tolperisone	246	98	20	83	Indometacin	358	139	15
40	Phenacetin	180	110	20	84	Novobiocin	613	189	30
41	Penicillin G	335	160	10	85	Mefenamic Acid	242	224	15
42	Cyclophosphamide	261	140	25	86	Chloramidine acetate	405	309	15
43	Azithromycin	375	591.5	15	87	Gemfibrozil	251	129	5
44	Spiramycin	422	174	20					



Agilent Technologies

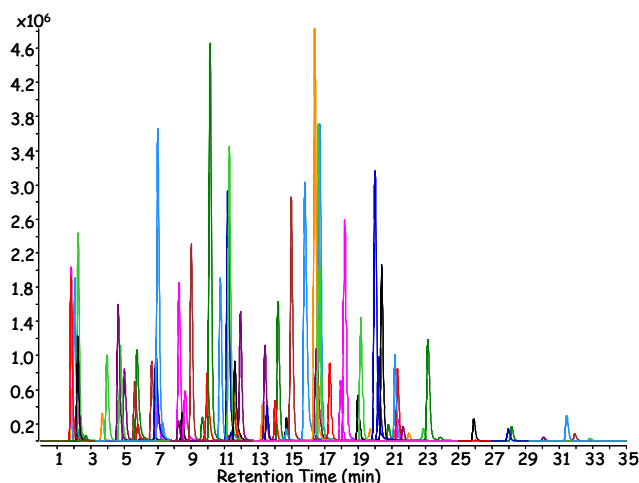


図. 1 各医薬品類のMRMクロマトグラム(5ng/mL)

表. 3 各医薬品類の検出限界及び直線性

No	PPCPs	S/N 1ppb	LODs(ppb) 25-1ppb	Linearity S/N=3	No	PPCPs	S/N 1ppb	LODs(ppb) 25-1ppb	Linearity S/N=3
1	Glicoline	98	0.0036	0.9991	45	Mepirizole	1353	0.0022	0.9993
2	Terbutaline	1910	0.0016	0.9998	46	Amoxicillin	492	0.0066	0.9992
3	Salbutamol	773	0.0039	0.9996	47	Sulfadimethoxine	1335	0.0022	0.9999
4	Atenolol	479	0.0063	0.9996	48	(S)-Propranolol	237	0.0127	0.9998
5	Sotalol	500	0.0060	0.9996	49	Dextromethorphan	254	0.0118	0.9996
6	Carbazochrome	391	0.0077	0.9999	50	Ifenprodil	463	0.0065	0.9998
7	Sulpride	1124	0.0027	0.9999	51	Prednisolone	32	0.0938	0.9997
8	Acetaminophenol	258	0.0116	0.9999	52	Tilmicosin	3	1.0000	0.9836
9	Theophylline	119	0.0252	0.9996	53	Difenidol	612	0.0049	0.9993
10	Ampicillin	149	0.0201	0.9995	54	Nalidixic acid	168	0.0179	0.9999
11	2-Quinoxalinecarboxylic acid	17	0.1745	0.9999	55	Flavoxate	6	0.5000	0.9945
12	Acetazolamide	39	0.0769	0.9997	56	Diltiazem	320	0.0094	0.9993
13	Caffeine	77	0.0390	0.9995	57	Dipyridamole	4	0.7500	0.9829
14	Scopolamine hydrobromide	1109	0.0027	0.9998	58	Erythromycin	400	0.0075	0.9984
15	Pirenzepine dihydrochloride	863	0.0035	0.9996	59	Carbamazepin	677	0.0044	0.9998
16	Pindolol	413	0.0073	0.9999	60	Promethazine	496	0.0060	0.9996
17	Trimethoprim	318	0.0094	0.9999	61	Haloperidol	424	0.0071	0.9993
18	Norfloracin	216	0.0139	0.9997	62	Fenitoin	22	0.1364	0.9992
19	Oflaxacin	524	0.0057	0.9993	63	Methoxsalen	207	0.0145	0.9996
20	Thiamphenicol	1743	0.0017	0.9999	64	Isopropylantipyrine	259	0.0116	0.9993
21	Oxytetracycline	52	0.0577	0.9985	65	Empiramine	468	0.0064	0.9998
22	Sulfadimidine	886	0.0034	0.9999	66	Amisulpride	115	0.0261	0.9993
23	Tetracycline	44	0.0682	0.9997	67	Verapamil	173	0.0173	0.9966
24	Danofloxacin	629	0.0048	0.9990	68	Kitasomycin	7	0.4286	0.9729
25	Antipyrine	170	0.0176	0.9998	69	N,N-Diethyl-m-toluamide	466	0.0064	1.0000
26	Metoclopramide	1276	0.0024	0.9997	70	Chlorpromazine	217	0.0138	0.9984
27	Primidone	154	0.0195	0.9996	71	Clarithromycin	144	0.0208	0.9968
28	Sulfamonomethoxine	249	0.0120	0.9995	72	Tolbutamide	119	0.0252	0.9983
29	Glenbutolol	753	0.0040	0.9999	73	Troleandomycin	200	0.0150	0.9936
30	(S)-Metoprolol	296	0.0101	0.9998	74	Griseofulvin	388	0.0077	0.9994
31	Sarafloxacin	186	0.0161	0.9996	75	Bezafibrate	83	0.0361	0.9985
32	Pentaxifyline	710	0.0042	0.9995	76	Ketoprofen	50	0.0600	0.9976
33	Sulfamethoxazole	1180	0.0025	0.9998	77	Naproxen	46	0.0652	0.9996
34	Neospiramycin	268	0.0112	0.9991	78	Josamycin	10	0.3000	0.9574
35	Disopyramide	468	0.0064	0.9999	79	Crotamiton	272	0.0110	0.9996
36	Chlortetracycline	3.6	0.8333	0.9771	80	Spirolactone	463	0.0065	0.9952
37	Ethenzamide	117	0.0256	1.0000	81	Fenoprofen	8	0.3750	0.9997
38	Bromovalerylurea	61	0.0492	0.9998	82	Diclofenac	28	0.1071	0.9993
39	Tolperisone	696	0.0043	1.0000	83	Indometacin	156	0.0192	0.9972
40	Phenacetin	1334	0.0022	1.0000	84	Novobiocin	36	0.0833	0.9938
41	Penicillin G	163	0.0184	0.9992	85	Mefenamic Acid	208	0.0144	0.9996
42	Cyclophosphamide	353	0.0085	0.9999	86	Chloramidine acetate	59	0.0508	0.9790
43	Azithromycin	923	0.0057	0.9991	87	Gemfibrozil	71	0.0423	0.9967
44	Spiramycin	520	0.0033	0.9951					

河川水 100 倍濃縮液の結果は図. 2 に示しましたが、9 種類の医薬品類が検出され、濃度は 0.2~21ng/mL でした。

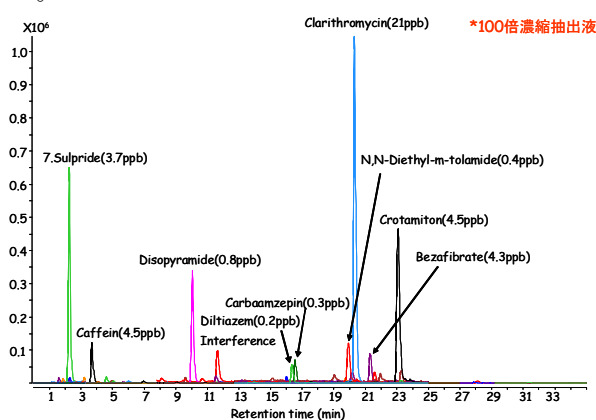


図. 2 河川水濃縮液の MRM クロマトグラム

この河川濃縮液に 0.5ng/mL 相当の 87 医薬品類の標準液を添加した試料での結果は図. 3、表. 4 に示し

た。その結果、Chlortetracycline, Flavoxate 以外は河川水由来の成分による妨害もなく検出が可能でした。しかし、一部の医薬品類でマトリックスによる増感、減感が認められました。再現性に関しては n=4 で相対標準偏差が 0.65~11.99%と良好でした。

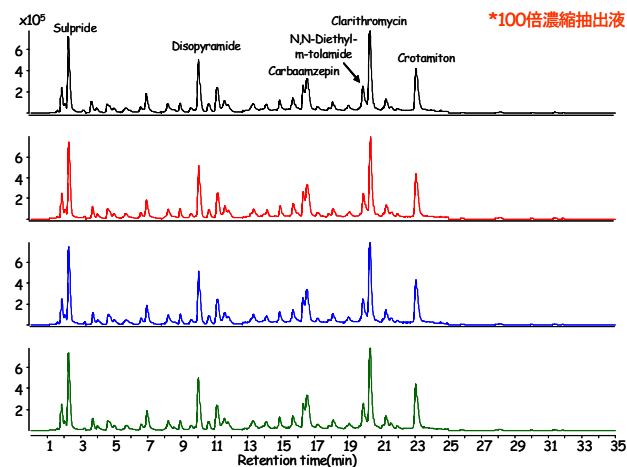


図. 3 河川濃縮液中 87 医薬品類の積算 MRM クロマトグラム(添加量:抽出液に 0.5ng/mL 相当)

表. 4 河川濃縮液中各医薬品類の相対強度及び再現性

No	PPCPs	Recovery 0.5ppb	RSD n=4	No	PPCPs	Recovery 0.5ppb	RSD n=4
1	Glicoline	91	9.19	45	Mepirizole	97	1.57
2	Terbutaline	82	2.14	46	Amoxicillin	179	3.88
3	Salbutamol	94	1.28	47	Sulfadimethoxine	126	2.65
4	Atenolol	89	2.52	48	(S)-Propranolol	101	3.59
5	Sotalol	81	1.80	49	Dextromethorphan	103	4.60
6	Carbazochrome	110	1.88	50	Ifenprodil	91	1.76
7	Sulpride	NA	NA	51	Prednisolone	70	11.35
8	Acetaminophenol	79	4.57	52	Tilmicosin	250	4.74
9	Theophylline	NA	NA	53	Difenidol	86	2.49
10	Ampicillin	103	3.58	54	Nalidixic acid	90	7.81
11	2-Quinoxalinecarboxylic acid	123	7.54	55	Flavoxate	ND	ND
12	Acetazolamide	70	7.48	56	Diltiazem	132	0.83
13	Caffeine	NA	NA	57	Dipyridamole	NA	NA
14	Scopolamine hydrobromide	101	1.68	58	Erythromycin	71	6.58
15	Pirenzepine dihydrochloride	95	4.50	59	Carbamazepin	89	3.89
16	Pindolol	85	1.85	60	Promethazine	81	1.24
17	Trimethoprim	86	1.69	61	Haloperidol	72	2.62
18	Norfloracin	57	6.16	62	Fenitoin	111	3.75
19	Oflaxacin	83	0.99	63	Methoxsalen	86	1.56
20	Thiamphenicol	134	3.67	64	Isopropylantipyrine	102	1.16
21	Oxytetracycline	220	10.30	65	Empiramine	78	2.42
22	Sulfadimidine	111	3.73	66	Amisulpride	67	3.80
23	Tetracycline	227	6.39	67	Verapamil	173	3.80
24	Danofloxacin	58	6.74	68	Kitasomycin	450	5.74
25	Antipyrine	107	2.67	69	N,N-Diethyl-m-toluamide	77	10.06
26	Metoclopramide	97	0.65	70	Chlorpromazine	74	5.91
27	Primidone	88	4.90	71	Clarithromycin	NA	NA
28	Sulfamonomethoxine	169	4.56	72	Tolbutamide	126	3.67
29	Glenbutolol	79	1.51	73	Troleandomycin	316	3.82
30	(S)-Metoprolol	99	6.68	74	Griseofulvin	108	4.04
31	Sarafloxacin	62	5.66	75	Bezafibrate	NA	NA
32	Pentaxifyline	92	1.76	76	Ketoprofen	120	5.00
33	Sulfamethoxazole	128	6.06	77	Naproxen	121	2.34
34	Neospiramycin	101	3.62	78	Josamycin	630	3.33
35	Disopyramide	76	3.88	79	Crotamiton	NA	NA
36	Chlortetracycline	ND	ND	80	Spirolactone	106	1.34
37	Ethenzamide	94	3.19	81	Fenoprofen	116	11.99
38	Bromovalerylurea	70	2.43	82	Diclofenac	100	1.50
39	Tolperisone	93	2.04	83	Indometacin	75	7.06
40	Phenacetin	83	1.96	84	Novobiocin	86	3.99
41	Penicillin G	145	3.56	85	Mefenamic Acid	76	3.19
42	Cyclophosphamide	92	2.76	86	Chloramidine acetate	221	2.85
43	Azithromycin	99	1.78	87	Gemfibrozil	76	3.88
44	Spiramycin	273	3.79				

4. まとめ

今回、LC-MS/MS を用いた河川水中の 87 医薬品類の一斉分析法を紹介しましたが、標準液で 1ng/mL 以下の測定が可能であり、河川濃縮液においても一部の農薬以外は顕著なマトリックス効果もなく測定が可能でした。

【LCMS-200901TK-001】

本資料に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更することがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

〒192-8510 東京都八王子市高倉町 9-1

www.agilent.com/chem/jp



Agilent Technologies