

## ピフルブミド

### (1) 装置

液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計 (HPLC/MS/MS) を用いる。

### (2) 試薬試液

メタノール：高速液体クロマトグラフ用又はこれと同等のもの

水：高速液体クロマトグラフ用又はこれと同等のもの

ピフルブミド標準品

### (3) 試験溶液の調製

試料 1 mL に、メタノール 1 mL を加えて混合、遠心分離 (2500 rpm、5 分間、20°C) した。得られた上清を必要に応じてメタノール/水(1/1, v/v)で定量範囲内となるよう希釈し、試験溶液とする。

### (4) 分析条件

#### HPLC

システム : Agilent 1200 High Performance Liquid Chromatograph  
(Agilent Technologies, Inc.)

カラム : Cadenza CD-C18(φ 2.0×50mm、3 μ m ODS、インタクト株式会社)

移動相 A : 0.1% (v/v) 蟻酸含有蒸留水

移動相 B : 0.1% (v/v) 蟻酸含有メタノール

流速 : 0.20ml/min

カラム温度 : 40°C

グラランジェンド : 0-3.0min 30%移動相 B 保持  
3.0-5.0min 30-100%移動相 B 直線購買  
5.0-10.0min 100%移送相 B 保持  
10.0-13.0min 30%移動相 B 保持

注入量 : 10 μ L

#### 質量分析

イオン化 : ESI

スキャン法 : 多反応モニタリング (MRM)

極性 : ポジティブ

ニードル電圧 : 5.0kV

ゲーテングス (CUR) : 10psi

ネブライザガス圧 (GS1) : 60psi

ターボガス温度 (TEM) : 600°C

ターボガス圧 (GS2) : 80psi

コリジョンガス圧 (CAD) : 4psi

トランジェントおよび各部電圧は以下のとおり。

化合物	Q1 <sup>A</sup> (amu)	Q3 <sup>B</sup> (amu)	Dwell Time (msec)	DP (V)	EP (V)	CEP (V)	CE (V)	CXP (V)	備考
NNI-0711	536.20	155.20	250	41	8	24	33	4	定量イオン
		111.10					75		定量イオン
NNI-0711 -NH	466.10	137.10	250	66	12	22	49	4	定量イオン
		111.30					53		定量イオン

(5) 検量線の作成

ピフルブミド標準品より 0.00010、00.00030、0.0010、0.0030、0.010、0.030 µg/mL のメタノール水溶液 (メタノール/水 (1/1, v/v)) を数点調製し、それぞれ 10 µL ずつ液体クロマトグラフに注入し、注入濃度およびピーク面積の対数変換値で線形回帰分析を行うことにより検量線を作成する。

(6) 定量試験

試験溶液から 10 µL ずつ取り、液体クロマトグラフタンデム型質量分析計に注入し、(5) の検量線によりピフルブミドの重量を求め、これに基づき試料中のピフルブミド濃度を算出する。