

# GC/MS ライブラリとデコンボリューション技術を用いた高速・高精度な薬物スクリーニング

## 著者

小笠原 亮

アジレント・テクノロジー  
株式会社

## 要旨

近年規制対象となる薬物の種類はますます増加しています。SIM モードや MRM モードなどのターゲット分析では対象化合物数が制限されることで取りこぼす可能性があるため、スクリーニングには全イオン検出モード（Scan モード）によるノンターゲット分析が必要です。しかし Scan モードは夾雑ピークによる干渉を受けやすく、純粋に該当ピークに由来するスペクトルを抽出する技術が必要となります。

Agilent MassHunter Unknowns Analysis ソフトウェアは独自のアルゴリズムにより高速かつ正確なデコンボリューション処理を行い、抽出された単独ピーク由来のマススペクトルのライブラリ検索までを行うソフトウェアです。数百ピーク含まれるデータに対してデコンボリューションとライブラリ検索が短時間で行われます。さらに Agilent 法中毒ライブラリのように相対レスポンスファクタが登録されているライブラリと MassHunter Quantitative Analysis ソフトウェアを併用することにより、サンプルにスパイクした内部標準物質(IS)とのレスポンス比から検出化合物の半定量が可能です。

Key word : GC/MS、薬物、デコンボリューション、MassHunter、スクリーニング、半定量

## はじめに

### デコンボリューション

一般的にノンターゲットスクリーニングはScanモードで行われます。Scanモードによるフルスペクトル測定は、ピークの取り逃がしが無い上にマススペクトルのデータベース照合による化合物定性能力に優れています。一方でSIMモードやMRMモードといった選択性の高い取り込み手法に比べると夾雑物の影響を受け易くなります。そこでスペクトルから夾雑の影響を排除するデータ処理技術が必要になりますが、データから特定のピーク由来のマススペクトルを抽出するための技術がデコンボリューションです。Agilent MassHunterソフトウェアは独自のデコンボリューション機能を備えています。このデコンボリューションアルゴリズムにより、少しでも保持時間やピーク形状に違いがあればクロマトグラム中の各コンポーネントのマススペクトルを迅速・正確に抽出することができます。図1はあるサンプルのTICC（黒）およびデコンボリューションにより得られた2つのコンポーネントクロマトグラム（緑および青）です。このTICCは一見すると一つのピークにしかな見えませんが、デコンボリューションすることにより初めて2つのコンポーネントが近接して存在することが確認されました。

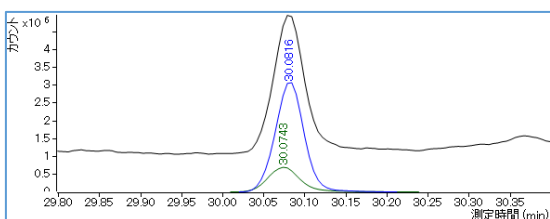


図1. あるサンプルのTICC（黒）とデコンボリューションで得られた2つのコンポーネントクロマトグラム（緑および青）

デコンボリューションで得られた各コンポーネントのマススペクトルはライブラリ検索でヒットし、化合物が同定されました（図2および3）。これらのピークの検出・定性はデコンボリューション無しで行うことは非常に困難です。

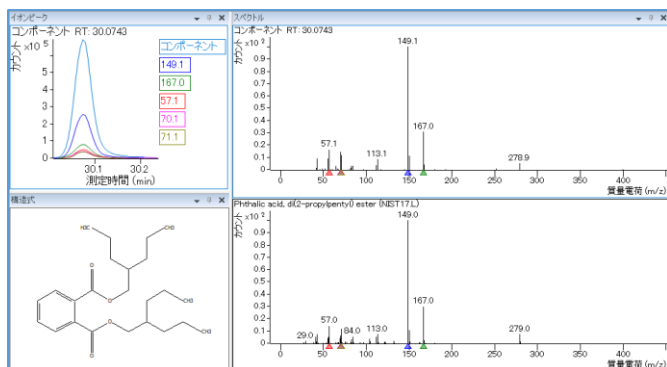


図2. コンポーネント（緑: RT 30.0743）の定性結果

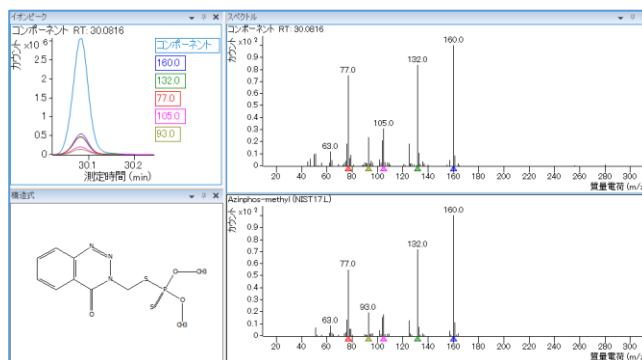


図3. コンポーネント（青: RT 30.0816）の定性結果

### データベース

薬物スクリーニングではマススペクトルの抽出処理技術も重要ですが、データベース（ライブラリ）にいかにも多くの薬物のスペクトルが登録されているかも重要なポイントです。また、異性体などマススペクトルが似通っている場合はリテンションタイム（RT）でスコアに差を付けることになるため、その基準となるリテンションインデックス（RI）の情報も有用です。今回使用するG1674AA Agilent Forensic Toxicology RTL Library（FT5）には法中毒学上重要な700以上のマススペクトルとRI、相対レスポンスが登録されており、精度の高い定性と半定量が可能です<sup>1</sup>。

## 実験方法

### 測定

血漿抽出サンプルに内部標準物質（IS）としてフェナントレンd-10 を1 $\mu$ Lあたり10ng添加し、7000シリーズトリプル四重極GC/MSのScanモードで測定しました。条件の詳細を表1に示します。

表1 測定条件

装置	
ガスクロマトグラフ	Agilent 7890B
オートサンブラ	Agilent 7693A
質量分析計	Agilent 7000D
条件	
カラム	DB-5ms, 30m x 0.25mm ID x 0.25 $\mu$ m
注入量	1 $\mu$ L
注入モード	スプリットレス
注入口温度	280°C
オープン温度プログラム	100°C (1min) - 10°C/min - 325°C (5min)
キャリアガス	ヘリウム
キャリアガス圧	19psi (一定)
トランスファーライン温度	300°C
イオン化モード	EI
イオン源温度	230°C
測定モード	Scan
スキャン範囲	m/z 40-570
四重極温度	150°C

同様の条件でC<sub>7</sub>-C<sub>33</sub>のn-アルカン混合標準の測定を行い、RIによるRTの補正に用いました。

## データ解析

デコンボリューションはAgilent MassHunter Unknowns Analysisソフトウェアで行いました。これらの操作でスコア80以上でヒットした化合物について、FT5に登録されているフェナントレンd-10との相対レスポンスから半定量を行いました。半定量はAgilent MassHunter 定量分析ソフトウェアで行いました。

## 結果と考察

### デコンボリューションおよびライブラリサーチ

化合物定性の結果、表2に示すようにCotinineとZolpidemが一致ファクタ>80でヒットしました。

表2 検出・定性された化合物

コンポーネント RT	化合物名	CAS#	一致ファクタ	ベストヒット	分子式
10.5682	Cotinine	486-56-6	93.9	<input checked="" type="checkbox"/>	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O
21.2685	Zolpidem	82626-48-0	90.7	<input checked="" type="checkbox"/>	C <sub>19</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O

Zolpidemのクロマトグラム、マススペクトル等を図4に示します。マススペクトルは上がサンプル中からデコンボリューションで得られたもの、下がライブラリスペクトルです。デコンボリューションによって、夾雑の影響が除かれています。

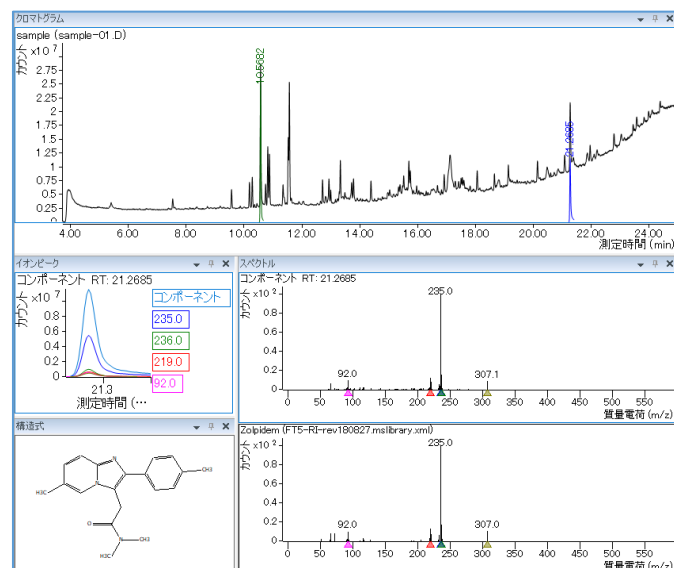


図4. Zolpidemのコンポーネントクロマトグラムおよびマススペクトル

デコンボリューションおよびライブラリ検索に要した時間は数十秒程度でした。同時に複数のデータをデコンボリューション/ライブラリ検索することも可能です。その場

合、サンプル数とTICC上のピーク数に比例して解析時間は長くなります。

## 半定量

検出されたCotinineとZolpidemについてFT5データベースに登録されているフェナントレンd-10 (IS) に対する相対レスポンスファクタを用いて定量値を推定しました。サンプル中のCotinineの濃度は13.8ppm、Zolpidemの濃度は18.9ppmと推定されました。このように事前に収集した相対レスポンスファクタを使用して行う定量方法は一般に半定量と呼ばれています。同じ装置コンディションのもとで標準品を測定して得られた検量線から算出される定量値に比べると、この半定量の手法は誤差が大きくなるのが否めませんが、標準品が無いあるいは入手が非常に困難な化合物について、桁レベルの大まかな濃度を知る目的においては非常に簡便で優れた手法と言えます。

## 結論

Agilent MassHunterとAgilent法中毒ライブラリを使用して夾雑物の多い血漿サンプル中からデコンボリューションによるマススペクトル抽出とライブラリ検索、さらに半定量を行いました。Agilentのデコンボリューションアルゴリズムにより、マニュアル操作ではうまく抽出できないデータから速く正確にマススペクトルを抽出できるのは特筆すべき点であり、薬物スクリーニング分析の生産性と正確性を向上させることが期待されます。今回はAgilent 7000Dトリプル四重極GC/MSのScanモードを使用しましたが、同様のことは5977シリーズGC/MSDのScanモードや7250GC/QTOFのTOFモードでも行うことが可能です。

## 参考文献

- 725化合物DRSデータベースとGC/MS/NPDシステムを使用した法中毒スクリーニングの改善  
5989-8582JAJP, 2008. Agilent Technologies Application Note

ホームページ

**[www.agilent.com/chem/jp](http://www.agilent.com/chem/jp)**

カスタマコンタクトセンタ

**0120-477-111**

**[email\\_japan@agilent.com](mailto:email_japan@agilent.com)**

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、  
医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。  
本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに  
変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2018

Printed in Japan, October 19, 2018

GC-MS-2018100G-001

