

Agilent6460 による薬物のスクリーニングシステム



<要旨> 向精神薬、睡眠薬、乱用薬物や一般医薬品(鎮痛薬、降圧薬など)を含めた 220 薬物の LC-MS/MS による高感度スクリーニング手法を開発しました。このスクリーニング手法を用いることで予め内部標準物質(正イオン:ジアゼパム-d5,負イオン:フェノバルビタール-d5)を用いた検量線により半定量が可能です。検出限界は殆どの正イオン薬物で 0.1 ng/mL、殆どの負イオン薬物で 0.1 ng/mL でした。また、このシステムには QuEChERS を用いた前処理手法も含まれています。

Key Words: DMRM、向精神薬、睡眠薬、乱用薬物、LC-MSMS、

1. はじめに

最近、法医学、救急救命の分野では多剤薬剤中毒患者が急増しており乱用薬物、向精神薬、睡眠鎮静薬や一般的な医薬品も含めて迅速な分析法が求められています。これら薬物の分析ではより多くの化合物の迅速な一斉分析が必要なことから、タンデム四重極型質量分析装置を用いた LC-MS が有効な手法です。

弊社ではタンデム四重極型質量分析計を用いた LC-MS システムによる 220 薬毒物迅速スクリーニングシステムを提供します。

2.1 装置及び測定条件

分析条件は表 1 に示した通りです。装置は Agilent6460 Triple Quadrupole LC/MS を使用しました。分析用カラムは逆相系の Agilent Technologies ZORBAX Eclipse Plus C18 RRHD (100mm,2.1mm,1.8um)、移動相にはアセトニトリル及び 0.1% ぎ酸+10mM ぎ酸アンモニウム混合水溶液を使用しました。また、半定量分析を行う目的で内部標準物質にジアゼパム-d5(正イオンモード)とフェノバルビタール-d5(負イオンモード)を使用しました。分析条件及び、各薬物の MRM 条件は表 2 に示した通りです。

表 1 220 薬物のスクリーニング分析

LC	: 1260 Infinity
Column	: ZORBAX Eclipse Plus C18 RRHD(100mm,2.1mm,1.8um)
Mobile phase	: A:0.1%ぎ酸+10mMぎ酸アンモニウム B:アセトニトリル 10%B---(20min)---100%B
Column temp	: 40°C
Sample volume	: 3uL
Flow rate	: 0.25mL/min
MS	: Agilent 6460 Triple Quadrupole LC/MS
Ionization	: AJS(Positive/Negative)
Drying gas	: 10L/min at 300°C
Nebulizer gas	: 345kPa
Fragmentor	: 100V
Sheath gas	: 400°C 12L/min
Nozzle	: 0V

表 2 各薬物の MRM 条件

No	drugs	No	drugs	No	drugs	No	drugs
1	Acetabtolol	46	Clotazepam	91	Glitenciamide	135	Naloxon
2	Acemetacin	47	Clazolom	92	Glitazide	136	Naproxen
3	Acetaminophan	48	Clazepam	93	Glimepiride	137	Nemonepride
4	Acetazolamid	49	Cocain	94	Glutethimide	138	Nicotine
5	Acetylpheneturide	50	Cocain	95	Haloperidol	139	Nihedipine
6	Alimemazine	51	Cyclobarbitol	96	Haloxazolom	140	Nimetazepam
7	Alprazolom	52	Cyproheptadine	97	Homochlorcyclizine	141	Nitrazepam
8	Alprenolol	53	antrolene	98	Hydroxizine	142	Nitrendipine
9	Amantidine	54	delorazepam	99	Ibuprofen	143	Nordiazepam
10	Amezinium	55	Desipramine	100	Imipramine	144	Nortriptyline
11	Amiodarone	56	Diazepam	101	Indometacin	145	Olanzapine
12	Amitriptyline	57	Diazepam-d5	102	Isopropylantipyrene	146	Olmesatran medoxomil
13	Amlopidine	58	dibucaine	103	Ketamine	147	Oxaprazin
14	Amobarbitol	59	Diclofenac	104	Ketoprofen	148	Oxazepam
15	Amoxapine	60	Digitoxin	105	Labeltolol	149	Oxazolom
16	Arotinolol	61	digoxin	106	Levomoprazazine	150	Oxybuprocain
17	Atenolol	62	dihydrocodein	107	Licoacine	151	Oxycodone
18	Atropine	63	Diltiazem	108	Lofepamine	152	Oxypertine
19	Azelidipine	64	Dimetotazine	109	Lorazepam	153	Pancuronium
20	Barbitol	65	Diphenhydramine	110	Lormetazepam	154	Papaverine
21	Biperidene	66	Diphenpyraline	111	Maprotyline	155	Paroxetine
22	Blonanserin	67	Disopyramine	112	Mazaticol	156	Pemaline
23	Bromazepam	68	Disigmine	113	Mazindol	157	Pentobarbitol
24	Bromocriptine	69	donepezil	114	Medazepam	158	Pentazocine
25	Bromovalerylurea	70	bosulepine	115	Mefenamic acid	159	Pergolide
26	Bromperidol	71	propiperidol	116	Meloxicam	160	Perosprione
27	Brotizolom	72	Duloxetine	117	Mephobarbitol	161	Perphenazine
28	Bupivacaine	73	Eptazocin	118	Mepivacaine	162	Pethidine
29	Buprenorphine	74	Estazolom	119	Mequitazine	163	Phenacetin
30	Cabergolin	75	Ethenzamide	120	Metarbitol	164	Phenobarbitol
31	Carbamazepine	76	Ethotoin	121	Methamphetamine	165	Phenobarbitol-d5
32	Caripramine	77	Ethyl loflazepate	122	Methocarbamol	166	Phenytoln
33	Carvedilol	78	Ethylmorphine	123	Methylidigoxin	167	Phenytoln
34	Chloridiazepoxide	79	Etilzolom	124	Methylphenidate	168	Pipiperone
35	Chlormezonone	80	Chodolac	125	Mefenoxone	169	Propofoln
36	Chlorphenesin	81	Fludiazepam	126	Meazolom	170	Proxicam
37	Chlorpheniramine	82	Flufenamic acid	127	Mianserin	171	Pramipexole
38	Chlorpromazine	83	Flumazenil	128	Midazolom	172	Praxepam
39	Chlorzoxazone	84	Flunitrazepam	129	Midodrine	173	primidon
40	Clemastine	85	Fluphenazine	130	Milnacipran	174	Proccain
41	Clobazom	86	Flurazepam	131	Modafinil	175	Prochlorperazine
42	Clocapramine	87	Flutazolom	132	Morphine	176	Profenamine
43	Clofedanol	88	Flutoprazepam	133	Mosapramine	177	Promethazine
44	Clomipramine	89	Fluvoxamine	134	Nabumetone	178	Proprietaryzine
45	Clonazepam	90	lappapentine				

2.2 前処理条件

試料(全血)前処理には QuEChERS 法に準じて行いました。手順は図 1 の通りです。アセトニトリルと硫酸マグネシウムによる相分離抽出は効率良く水溶性の高い薬物を抽出することが可能です。また、PSA や C18 充填剤による分散 SPE は全血中のマトリックス成分の除去が可能であり、脂溶性薬物のイオン化阻害の低減に有効です。



Agilent Technologies

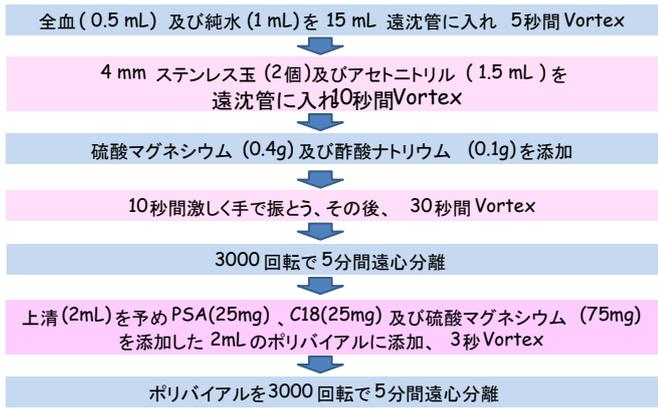


図1 試料(全血)前処理手順

3. 結果及び考察

今回紹介する薬物スクリーニングシステムでの測定例は図3に示しました。このスクリーニングシステムでは正、負イオンの同時測定が可能であり、負イオンモードで測定する必要があるバルビタール系睡眠薬についても同時測定が可能です。

図2には全薬物及び内部標準物質のMRMクロマトグラムを示しました。また、図3に一例としてアルプロゾラムのMRMクロマトグラムを示しましたが、0.05ng/mLでS/Nが100以上でした。全薬物の検出限界は表3に示した薬物以外は全て0.1ng/mL以下であり、表3の薬物も通常の処方量から推定すると生体試料中で十分に測定可能な感度でした。

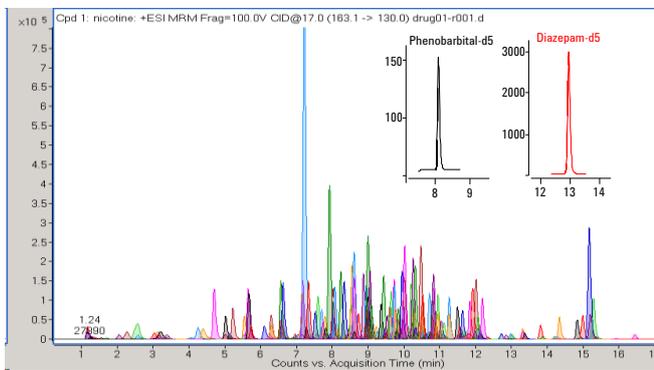


図2 全薬物のMRMクロマトグラム(25ng/mL)

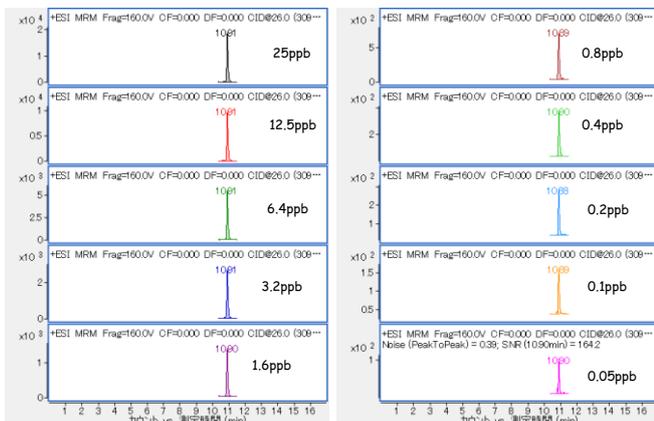


図3 アルプラゾラムのMRMクロマトグラム

表3 感度の低い薬物の検出限界

化合物名	検出限界	化合物名	検出限界
アセタゾラム	1	ナブメトン	1
ジステグミン	25	アセメタシン	1
パンクロニウム	0.2	バルビタール	5
ハロキサゾラム	0.2	サリチル酸	2
フルタゾラム	5	メトバルビタール	2
プロモワレニル尿素	2	フェノバルビタール	5
オキサゾラム	1	シクロバルビタール	5
クロルメザノン	1	アモバルビタール	10
クロルゾキサゾン	1	ペントバルビタール	10
フェニトイン	1	メホバルビタール	10
チオペンタール	1	セコバルビタール	25
ダントロレン	25	ケトプロフェン	25
グルテチミド	1	チアミラル	5
ロラゼパム	1	ジクロフェナック	0.5
アセチルフェネトライド	5	イブプロフェン	25
チアプロフェン酸	0.5	フルフェナム酸	0.5
オルメサルタン	25	メフェナム酸	1
ナプロキセン	5	トルフェナム酸	0.5

濃度単位:ng/mL :負イオンモード

図4には前述の前処理法で薬物添加全血を処理したマトリックス検量線を示しましたが、良好な直線性があらわれました。

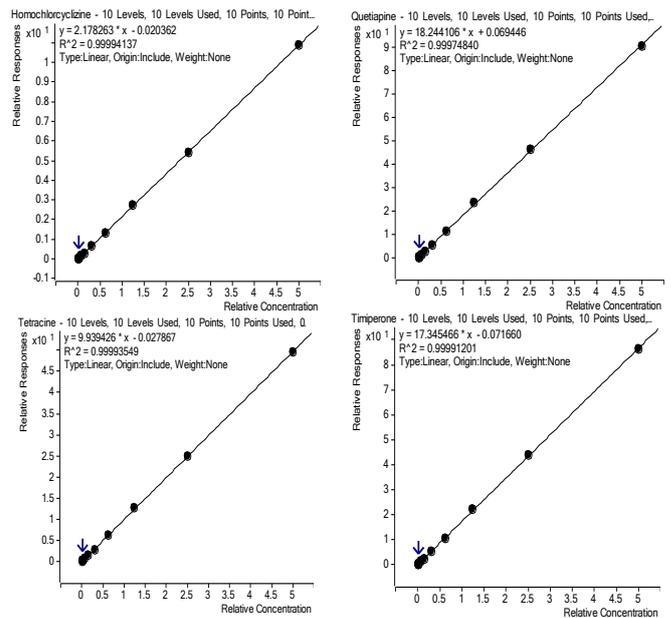


図4 薬物の全血によるマトリックス検量線

4.まとめ

今回、LC/MSを使用した薬物スクリーニングシステムの紹介をしましたが、このスクリーニングシステムを使用することで、標準品を使用しない全血中薬物の半定量が可能と思われます。

【LC-MS-201510TK-001】

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる障害について一切免責とさせていただきます。また、本文書に記載の情報、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

<http://www.agilent.com/chem/jp>



Agilent Technologies