



Bond Elut QuEChERS EMR Lipids を用いた 薬物一斉分析の前処理法



Agilent Technologies

要旨 > 向精神薬を中心に一般医薬品を含めた 151 薬物の Bond Elut QuEChERS EMR Lipids を用いた迅速、簡便かつ信頼性の高い前処理法を開発しました。全血および尿中 1 ng/mL で全ての薬物において SN>10 で検出が可能でした。全血および尿で調製した試料(添加量:1,5,10 and 50 ng/mL)での検量線の決定係数は 0.996 以上と良好な結果でした。また、再現性は 10 ng/mL(n=5)における相対標準偏差が 2.13~11.86%でした。

Key Words: Bond Elut QuEChERS EMR Lipids、向精神薬、LC/MS/MS、スクリーニング

1. はじめに

近年、LC-MS の技術的進歩に伴い臨床中毒学、法科学および法医学分野において LC/MS を用いた多成分薬物スクリーニング法は頻繁に使用されるようになってきました。また、生体試料中の様々な薬物の抽出および精製に QuEChERS 法が普及しています。この前処理法は名称の通り、迅速、簡単、安価で堅牢性の高い安全な方法です。しかし、現在使用されている精製用の分散固相抽出法に用いる吸着剤は、特異性が低く薬物によっては極端に回収率が低下します。そこで、より簡便な精製法として長鎖アルキル基を特異的に吸着する吸着剤を用いた分散固相抽出法を用いた方法について紹介します。

2. 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 Agilent 6495 トリプル四重極 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 RRHT (2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm, P/N: 959758-902)、移動相はアセトニトリル及び 0.1 % 塩酸 + 5 mM 塩酸アンモニウム混合水溶液を使用しました。

表 1 151 種薬物の LC/MS/MS による分析条件

LC	: Agilent 1290 Infinity II LC System
Column	: ZORBAX Eclipse Plus C18(100 mm, 2.1 mm, 1.8 μm)
Mobile phase	A: 0.1 % 塩酸 + 5 mM 塩酸アンモニウム B: アセトニトリル 10 % B --- (30 min) --- 100 % B
Column temp	: 20 °C
Sample volume	: 1 μL
Flow rate	: 0.2 mL/min
MS	: Agilent 6495 Triple Quadrupole LC/MS System
Ionization	: AJS(Positive/Negative)
Drying gas	: 20 L/min at 200 °C
Nebulizer gas	: 345 kPa
Sheath gas	: 12 L/min at 400 °C
Fragmentor	: 380 V

生体試料には全血および尿を用い、図 2 に示した通り長鎖炭化水素を特異的に吸着する Agilent Bond Elut QuEChERS EMR Lipid (P/N: 5982-1010) および Agilent Bond Elut QuEChERS EMR Lipid 脱水キット(P/N:

5982-0101)を用いた方法で試料前処理を行い、最終処理液は LC/MS を用いて分析を行いました。

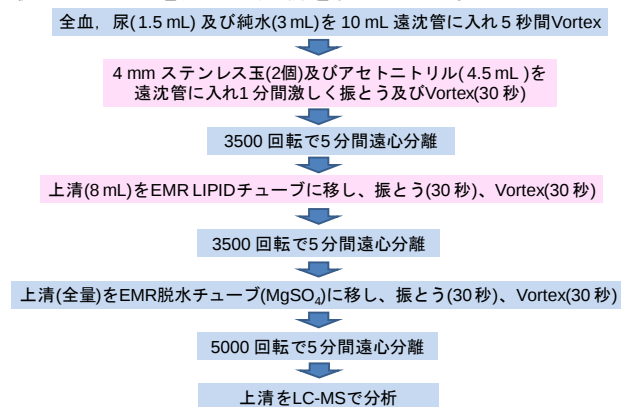


図 2 Agilent Bond Elut QuEChERS EMR Lipid を用いた試料前処理法

3. 結果及び考察

151 薬物標準混合液の MRM クロマトグラムは図 2 に示しました。今回、150 以上の多成分一成分分析であったことから各薬物の保持時間と測定範囲を設定する dMRM 法が高感度分析に有効でした。

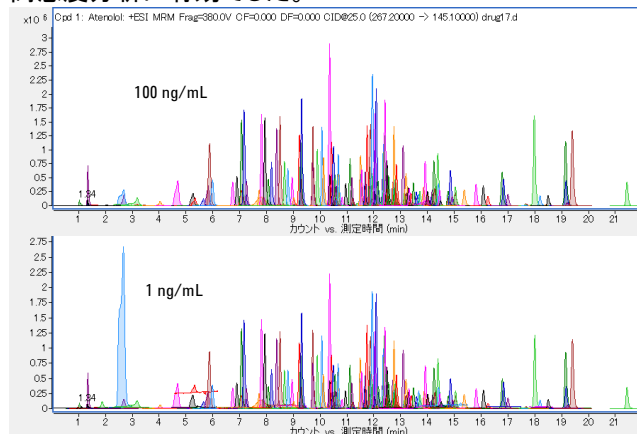


図 2 151 薬物の MRM クロマトグラム



Agilent Technologies

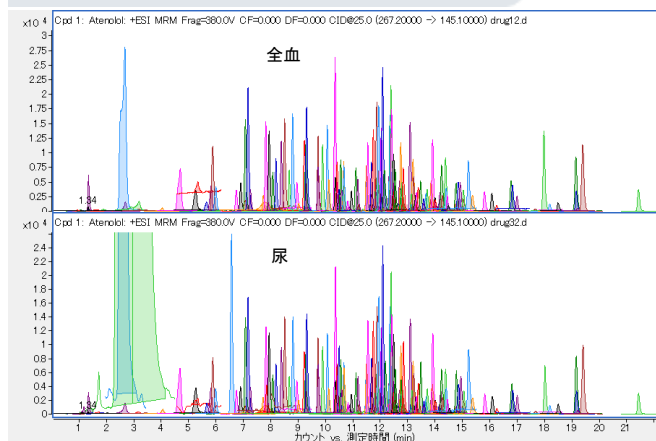


図3 151薬物標準混合液添加全血および尿のMRMクロマトグラム(添加量:1 ng/mL)

図3に予め薬物標準混合液を添加した全血および尿を前述の前処理条件で処理した試料を測定したMRMクロマトグラムを示しました。結果、全血および尿共に試料由来の

表2 151薬物の決定係数及び相対標準偏差

薬物	決定係数		相対標準偏差		薬物	決定係数		相対標準偏差		薬物	決定係数		相対標準偏差		薬物	決定係数		相対標準偏差	
	全血	尿	全血	尿		全血	尿	全血	尿		全血	尿	全血	尿		全血	尿	全血	尿
Talipexole	0.996	0.997	9.21	7.22	Tramadol	0.998	0.998	5.56	10.35	Phenacetin	0.999	0.999	5.26	8.94	Medazepam	0.999	0.998	5.87	10.87
Atenolol	0.996	0.997	9.34	6.82	Methylphenidate	0.999	0.999	5.00	9.66	Trazodone	0.999	0.999	5.97	9.08	Sildenafil	0.997	0.997	6.68	5.94
Morphine	0.998	0.998	7.06	8.79	Arotinolol	0.999	0.999	4.86	6.41	Bupivacaine	0.999	0.999	4.48	11.05	Homochlorcyclazine	0.998	0.997	8.29	11.03
Sulpiride	0.998	0.998	3.72	8.01	Oxycodone	0.998	0.999	3.32	8.59	Flumazenil	0.999	0.999	4.66	8.70	Demoxepam	0.994	0.995	10.12	9.78
Dihydrocodein	0.996	0.997	9.44	6.12	Methocarbamol	0.999	0.998	6.15	10.79	Droperidol	0.999	0.999	5.07	8.04	Mazaticol	0.998	0.997	5.79	10.43
Ephedrine	0.997	0.996	10.21		Mexazolam	0.999	0.999	2.91	9.43	Clofedanol	0.999	0.999	3.00	10.20	Chlordiazepoxide	0.994	0.995	9.12	8.14
Codein	0.996	0.996	10.54	7.30	Ropivacaine	0.999	0.999	4.68	8.18	Donepezil	0.999	0.999	3.21	10.77	Amoxapine	0.998	0.998	8.14	7.70
Olanzapine	0.996	0.996	9.78	8.02	Cocain	0.999	0.999	3.07	8.81	Timiperone	0.999	0.999	3.75	10.56	Buprenorphine	0.998	0.998	5.84	8.41
Methamphetamine	0.998	0.997	4.77	7.59	Pethidine	0.999	0.999	4.51	7.69	Flutazolam	0.999	0.999	2.75	6.82	Proprietarycazine	0.997	0.997	9.11	9.82
Amantadine	0.996	0.995	9.93	7.45	Acetylpheneturide	0.999	0.999	3.06	4.12	Bromazepam	0.999	0.999	3.77	8.23	Haloperidol	0.999	0.998	5.09	7.53
Eptazocin	0.996	0.996	3.95	6.21	Tandospirone	0.999	0.998	2.94	6.14	Midazolam	0.999	0.999	5.57	8.72	Promethazine	0.999	0.999	7.31	7.82
Amezinium	0.999	0.999	4.67	8.77	9-OH-Risperidone	0.999	0.999	8.46	6.47	Oxyptertine	0.996	0.996	9.25	9.71	Carbamazepine	0.999	0.999	3.12	8.87
Atropine	0.997	0.997	6.31	6.10	Zolpidem	0.999	0.999	3.65	9.72	Quetiapine	0.997	0.996	2.73	8.93	Perospirone	0.999	0.998	5.93	6.21
Mepivacaine	0.999	0.998	3.74	6.91	Milnacipran	0.999	0.999	5.37	10.54	Oxybuprocain	0.998	0.999	3.73	11.86	Diphenylpyraline	0.997	0.998	5.21	8.01
Ketamine	0.998	0.999	3.48	8.85	Papaverine	0.999	0.999	5.85	8.77	Setipitiline	0.999	0.999	6.92	7.96	Dimetotiazine	0.998	0.998	6.60	10.19
Pipamperone	0.998	0.999	4.28	8.34	Tenoxicam	0.998	0.998	6.51	11.69	Chlomezanone	0.997	0.997	9.57	7.98	Thiopental	0.997	0.997	7.53	7.77
Acebutolol	0.998	0.998	5.21	9.11	Ethothoin	0.999	0.999	5.22	6.12	Spiperone	0.999	0.999	5.24	7.41	Paroxetine	0.998	0.997	4.84	6.31
Zopiclone	0.997	0.996	6.01	8.64	Labetalol	0.999	0.999	3.77	8.17	Mianserin	0.999	0.998	2.68	3.48	Bromperidol	0.999	0.999	5.81	8.37
Cloxacolam	0.998	0.998	6.52	4.18	Risperidone	0.999	0.999	2.84	8.32	Flurazepam	0.999	0.999	5.98	7.43	Biperidene	0.999	0.999	5.39	7.01

薬物	決定係数		相対標準偏差		薬物	決定係数		相対標準偏差		薬物	決定係数		相対標準偏差		薬物	決定係数		相対標準偏差	
	全血	尿	全血	尿		全血	尿	全血	尿		全血	尿	全血	尿		全血	尿	全血	尿
Carvezilol	0.998	0.998	3.88	8.62	Verapamil	0.998	0.997	4.74	6.12	Flunitrazepam	0.999	0.999	4.01	10.70	Trifluoperazine	0.997	0.997	3.91	8.65
Dosulepine	0.998	0.998	5.18	6.27	Amitriptyline	0.999	0.999	2.53	8.67	Clomipramine	0.999	0.999	6.05	8.03	Fludiazepam	0.999	0.997	3.84	9.08
Nemonapride	0.999	0.998	7.02	9.17	Lorazepam	0.999	0.999	5.16	9.72	Etizolam	0.996	0.997	5.24	8.23	Diazepam	0.999	0.998	4.01	9.07
Desipramine	0.998	0.999	3.00	10.35	Levomopromazine	0.997	0.998	8.35	7.16	Tofisopam	0.999	0.999	4.19	9.93	Gliclazide	0.999	0.998	4.56	6.97
Amlodipine	0.999	0.999	3.48	7.84	Clonazepam	0.999	0.999	2.98	7.28	Temazepam	0.999	0.999	5.84	10.32	Ethyl lofiazepate	0.999	0.999	3.61	9.43
Fluvoxamine	0.999	0.999	5.68	8.34	Alprazolam	0.999	0.999	5.83	9.61	Nimetazepam	0.999	0.998	2.43	9.96	Oxapropin	0.999	0.999	5.51	8.20
Cyproheptadine	0.997	0.997	2.13	7.67	Trimipramine	0.999		3.52	5.75	Tiaprofenic acid	0.996	0.999	3.80	10.24	Clotiazepam	0.999	0.999	4.31	9.29
Oxazepam	0.999	0.999	8.50	6.17	Mequitazine	0.995	0.996	8.07	9.01	Prochlorperazine	0.998	0.999	6.17	7.42	Etodolac	0.999	0.999	5.79	9.14
Imipramine	0.999	0.998	8.89	8.97	Sulindac	0.994	0.995	5.32	4.93	Fluphenazine	0.998	1.000	7.54	6.64	Acemetacin	0.996	0.996	4.60	7.15
Hydroxizine	0.999	0.999	7.93	9.46	Metixene	0.999	0.998	6.64	9.79	Delorazepam	0.996	0.997	9.09	9.32	Nitrendipine	0.999	0.999	4.77	5.12
Nitrazepam	0.999	0.998	7.78	8.14	Piroheptine	0.999	0.997	1.50	7.31	Pimozide	0.999	0.999	5.90	9.03	Indomethacin	0.999	0.999	6.57	9.72
Estazolam	0.999	0.999	3.03	7.43	Triazolam	0.999	0.999	3.38	6.46	Clobazam	0.999	0.999	3.98	11.05	Glibenclamide	0.999	0.999	5.45	8.11
Trihexyphenidyl	0.997	0.997	6.56	5.12	Perphenazine	0.998	0.999	7.15	8.75	Clocapramine	0.999	0.999	3.57	9.15	Azelinidipine	0.999	0.999	5.03	8.04
Nortriptyline	0.996	0.998	3.37	8.59	Sertraline	0.999	0.998	8.03	9.20	Ketoprofen	0.996	0.997	4.49	6.14	Glimepiride	0.999	0.999	5.82	7.58
Alimemazine	0.996	0.994	3.35	7.77	Chlorpromazine	0.998	0.999	6.11	6.32	Lormetazepam	0.999	0.999	9.15	6.80	Flutoprazepam	0.999	0.999	3.53	8.95
Isopropylantipyrene	0.996	0.997	7.28	10.53	Reserpine	0.997	0.997	6.77	9.90	Meloxicam	0.998	0.999	6.41	9.55	Nilvadipine	0.999	0.999	6.50	6.17
Piroxicam	0.997	0.998	5.03	9.47	Zotepine	0.999	0.998	7.15	8.49	Thioridazine	0.999	0.999	9.45	9.01	Prazepam	0.999	0.999	4.04	8.79
Maprotyline	0.997	0.997	5.80	7.98	Brotizolam	0.999	0.999	4.17	6.21	Bromocriptine	0.998	0.999	6.07	8.88	Quazepam	0.999	0.999	3.58	9.90
Carpipramine	0.998	0.999	8.50	9.88	Nordiazepam	0.999	0.998	6.32	9.25	Mosapramine	0.999	0.998	5.08	5.47					

決定係数:1,5,10 and 50 ng/mL 相対標準偏差:10 ng/mL(n=5)

【LC-MS-201708TK-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