

Agilent 8890 GC による 依存性薬物の分析

著者

Abbey Fausett
Agilent Technologies, Inc.

概要

このアプリケーションノートでは、一般的なスクリーニング対象薬物を正確に同定するためのメソッドを紹介します。ワークフローは、Agilent 8890 GC、Agilent 5977シリーズ MSD、Agilent 7693A シリーズオートサンプラ、Agilent J&W DB-5ms ウルトライナート高速高分離カラムで構成されています。このメソッドでは、一般的な薬物に対して優れた分離能を実現でき、高い再現性が得られます。

はじめに

麻薬物質の分析確認では、非常に高いデータ信頼性ときわめて低い誤差範囲が求められます。多くの場合、ストリートドラッグでも処方薬でも、法医学サンプル中の依存性薬物の存在は、ガスクロマトグラフィー (GC) 技術とシングル四重極質量計 (MS) の組み合わせ、つまり GC/MS を用いて確認します。押収された薬物の分析では通常、定量は行わず、ライブラリと一致する高品質な質量スペクトルを用います。ピークスペクトルと最適に一致させるには、クロマトグラフィーを最適化し、システムを日常的に保守しなければなりません。アジレントは多くの資料において、押収薬物¹と法医学および臨床研究^{2,3}の両方で標準的な GC/MS 用のカラムを使用した分析条件を紹介してきました。このアプリケーションノートでは、8890 GC での評価のために高速高分離カラムを選択しました。高速高分離カラムは、内径が細いため、より優れた圧力制御が必要となります。8890 GC で搭載された第 6 世代 EPC は、2 mL/min 未満のカラム流量に必要な圧力の供給において、きわめて優れた制御機能と精度を示します。8890 GC では、ユーザーによる設定が可能なメンテナンスカウンタ、診断イベント、他のシステムパラメータを実装して記録できるため、収集したデータに対する信頼性がさらに向上します。8890 GC には、リテンションタイムロッキング、不活性化処理済み消耗品、使い慣れたソフトウェアインタフェースなど、従来の Agilent GC の特長も組み込まれています。

実験方法

ワークフローでは、スプリット/スプリットレス注入口付き 8890 GC と、5977A GC/MSD、7693A シリーズオートサンブラ (ALS) システムを組み合わせて使用しました。データの取り込みと処理には、Agilent MassHunter GC/MS ソフトウェアを用いました。試験では 5 µg/mL 標準として、Agilent GC/MS 法中毒学チェックアウト混合物 (p/n 5190-0471) を使用しました。この 28 種類の混合化合物には、アンフェタミン、オピエート、ベンゾジアゼピンなど、よくスクリーニング対象となる薬物が含まれています。高速高分離のウルトライ

ナート (UI) カラムを使用して分析対象物をスクリーニングしました。また、UI 低圧力損失ライナを使用して注入口ディスクリミネーションを最小に抑えました¹。一般的に、高速高分離カラムはオーバーロードしやすいため、サンプルの注入量はごく少量にする必要があります。そのための最も簡単な方法は、このメソッドに高スプリット比を適用することです。あるいは、高速高分離カラムで分離する場合は、サンプルをさらに希釈することも有効です。

表 1. 依存性薬物のデータ取り込みで使用した消耗品

部品	製品名
ALS シリンジ	Agilent ALS シリンジ、10 µL、ブルーライン (p/n G4513-80204)
バイアル、MS 認定	5182-0716
セプタム	アドバンスドグリーン (p/n 5183-4761)
ライナ	注入口ライナ、UI、低圧力損失 (p/n 5190-2295)
カラム	Agilent J&W DB-5ms UI、20 m × 180 µm × 0.18 µm (p/n 121-5522UI)
エクストラクタレンズ	9 mm (p/n G3870-20449)

表 2. 8890 GC での依存性薬物のメソッド条件

パラメータ	設定値
シリンジサイズ	10 µL
注入量	1 µL
注入口タイプ	スプリット/スプリットレス
注入口モード	スプリット
注入口温度	250 °C
スプリット流量	30 mL/min
スプリット比	20:1
ガスセーバータイム	オフ
セプタムパージモード	標準
セプタムパージ	3 mL/min
キャリアガス	ヘリウム
カラム	J&W DB-5ms UI、20 m × 180 µm、0.18 µm
カラム流量	1.5 mL/min
オープン平衡化	1 分
オープンプログラム	95 °C、20 °C/min で 300 °C まで降温 3.5 分間保持
GC 分析時間	13.75 分
MSD トランスファーライン	280 °C

表 3. 5977 GC/MSD (エクストラクタ) での依存性薬物の分析条件

5977A GC/MSD の条件	
パラメータ	設定値
イオン源	エクストラクタ、9 mm レンズ
高真空ポンプ	ターボ
モード	スキャン
範囲	m/z 40 ~ 500
チューンアルゴリズム	Etune
イオン源温度	250 °C
四重極温度	175 °C

結果と考察

メソッドの最適化において、アンフェタミン化合物でのオーバーロードが顕著だったため、このピーク形状についてスプリット比を最適化しました。ロラゼパム、オキサゼパム、トラゾドンの検出ではトレードオフがありました。これらの化合物は混合物中の他の薬物と比べて、レスポンスが鈍いためです。一般に、確認は比較的高い濃度で実行されるため、スプリット比はこの中濃度範囲のサンプルで示されるよりも高くなります。20:1 のスプリット比で十分なレスポンスがあり、これらの条件下で、ピークを適切に積分し、スペクトルを抽出して、ロラゼパム、オキサゼパム、トラゾドンについて高品質な一致が得られましたが、これらの低いレスポンスに関しては説明が必要です。

高速高分離カラムによって優れた分離能が達成されました。28 個すべてのピークを容易に同定できました。スペクトル結果を NIST ライブラリで処理した際に、各ピークが最も一致しているものとして適切に同定され、優れた一致スコアとなりました。特に高温においてバックグラウンド除去を実行したことで、一致品質が大幅に高まりました。図 1 に代表的なトータルイオンクロマトグラム (TIC) を、表 4 に化合物の概要を示します。

再現性を調べたところ、d-アンフェタミンとフェンテルミンを除くすべての化合物で、リテンションタイムの標準偏差 (RSD) は 0 ~ 0.08 % の範囲でした。25 回の繰り返し注入で、ほぼすべての化合物が 0.03 % のリテンション RSD を示しました。除いた 2 つの化合物は、溶媒

ピークの直後に溶出するため、再現性は他のピークに比べ低い結果でした。スプリット比をさらに高くすると、早期に溶出するアンフェタミンの再現性は向上しますが、オキサゼパム、ロラゼパム、トラゾドンのレスポンスが下がることになります。直径 250 μm の従来の GC/MS カラムを使用して、これらの混合物の

レスポンスを改善する取り組み⁴が行われています。こうした手法は高速高分離カラムを使用する場合にも有用です。

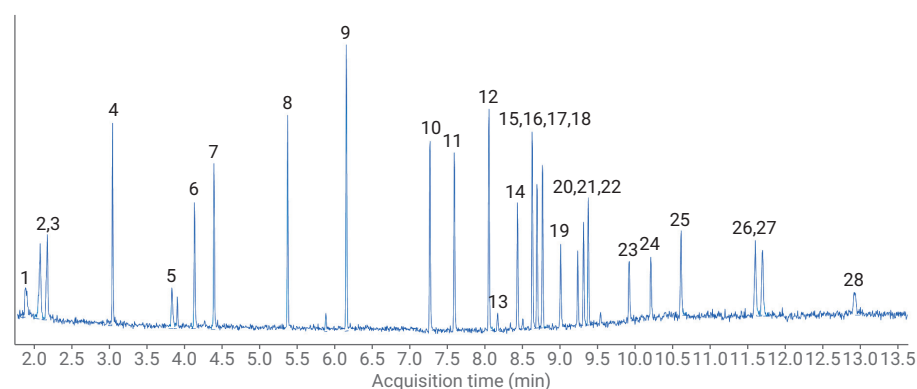


図 1. 混合薬物の TIC (5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 20:1 スプリット、 m/z 40 ~ 500 のフルスキャン範囲)

表 4. 化合物の概要

インデックス	化合物	RT	インデックス	化合物	RT
1	d-アンフェタミン	1.85	15	ロラゼパム	8.61
2	フェンテルミン	2.05	16	ジアゼパム	8.73
3	メタンフェタミン	2.14	17	ヒドロコドン	8.79
4	ニコチン	3.03	18	THC	8.86
5	MDA	3.83	19	オキシコドン	9.10
6	MDMA	4.14	20	テマゼパム	9.33
7	MDEA	4.40	21	フルニトラゼパム	9.41
8	メペリジン	5.40	22	ヘロイン	9.47
9	フェンシクリジン	6.19	23	ニトラゼパム	10.02
10	メサドン	7.35	24	クロナゼパム	10.31
11	コカイン	7.68	25	アルプラゾラム	10.72
12	プロアジフェン	8.14	26	ペラパミル	11.71
13	オキサゼパム	8.26	27	ストリキニーネ	11.81
14	コデイン	8.53	28	トラゾドン	13.04

結論

このメソッドでは、分析対象の薬物において優れた分離能が得られ、28種類すべての化合物を正確に同定することができました。25回以上の注入においても、リテンションタイムの再現性は、ほぼすべての化合物でRSDは0.03%となりました。8890 GC スプリット/スプリットレス注入口によって精密な温度および圧力/流量制御が可能になり、高速高分離カラムを用いることで高品質データを生成できます。カラムのオーバーローディングは高速高分離カラムを用いる際の第一の考慮事項であるため、最適な形で利用できるのは次のような場合です。

- 高スプリット比が可能なアプリケーション
- 注入量を減らすことができる場合
- 目的の化合物が不純物である場合、または低濃度であることが分かっている場合

多くの場合、高速高分離カラムへの移行で分析速度が向上しますが、導入時には注入量、キャリブレーション範囲、望ましい分離能を考慮する必要があります。Agilent メソッドトランスレータ⁵は、ガスクロマトグラフィーの設定値の評価と比較に非常に有用なツールで、カラムキャパシティの計算機能も備えています。8890 GC はスマートテクノロジー機能を提供する次世代メインフレームであり、ワークフローで実証されたすべての Agilent 消耗品に対応しています。

参考文献

1. Zhao, L.; Quimby, B., Analysis of Drugs of Abuse by GC/MS using the Ultra Inert Inlet Liners with Wool. *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5990-7596EN, **2011**.
2. Quimby, B. Improved Forensic Toxicology Screening Using a GC/MS/NPD System with a 725-Compound DRS Database. *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5989-8582EN, **2008**.
3. Churley, M.; Rodriguez, L. C. Screen More Drugs with the Agilent GC/MS Toxicology Analyzer with a High Efficiency Source. *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-6294EN, **2017**.
4. Dang, N. A. Analyze Drugs of Abuse with Agilent J&W Ultimate Plus Tubing in an Inert Flowpath. *Agilent Technologies Application Note*, publication number 5991-5303EN, **2016**.
5. Agilent YouTube channel, Method Translator Education Series, <https://www.youtube.com/watch?v=Q-359Q4qD-Q>.

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

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. 2019

Printed in Japan, February 4, 2019

5994-0486JAJP