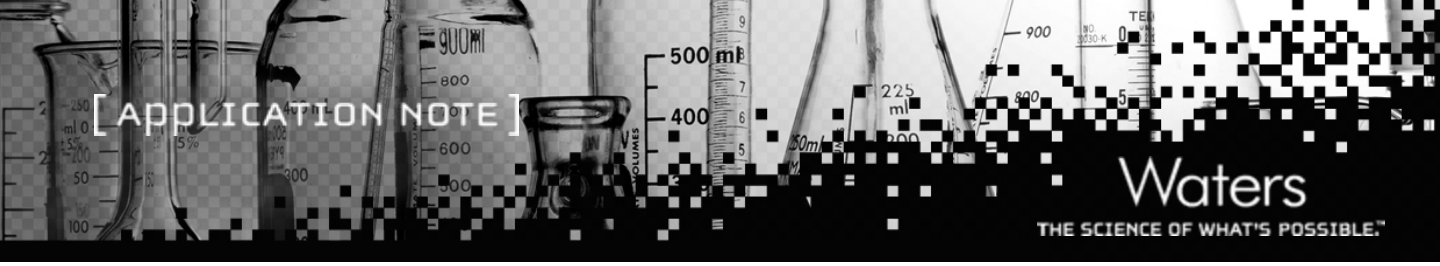

No. 720001097J

ESCi™マルチモードイオン化を用いた医薬品の同時MS分析 ACQUITY UPLC®–Quattro Premier™

概要

最近の医薬品の創薬開発の発展は、LC/MS/MSのアプリケーションによるところが大きいと言えるでしょう。LC/MS/MSはADMEにおける定量目的で幅広く利用されております。通常その定量は、大気圧下、ESI（electrospray ionization）及びAPCI（atmospheric pressure chemical ionization）等のイオン源を用いて行われます。一般的には約80％の化合物がESIを用いて分析されます[1]。APCIは、ESIで分析対象物がイオン化されない場合に利用されます。イオン化及び感度といった観点から測定対象物質によって、APCI及びESIからイオン化のモードが決定されます。過去においては、ESIからAPCIへとイオン化モードを変換するには物理的にイオン源を交換し、イオン源のパラメーターを最適化する必要がありました。そのため化学的に構造の異なる化合物の分析に対応し分析のスループットをあげるため、マルチモードのイオン化がLC/MS分析で注目を集めて参りました。Quattro Premier™は、20ms delayにて極性及びイオン化モードの切り替えを行うことが出来、またMRM分析におけるminimum inter-channel delay及びdwell timeは5msです。本アプリケーションでは、ESCiマルチモードイオン源を利用したUPLC®-Quattro Premier™を用いて、1回の注入でイオン化モード・極性をかえて行った4種類の化合物の定量結果についてお示し致します。

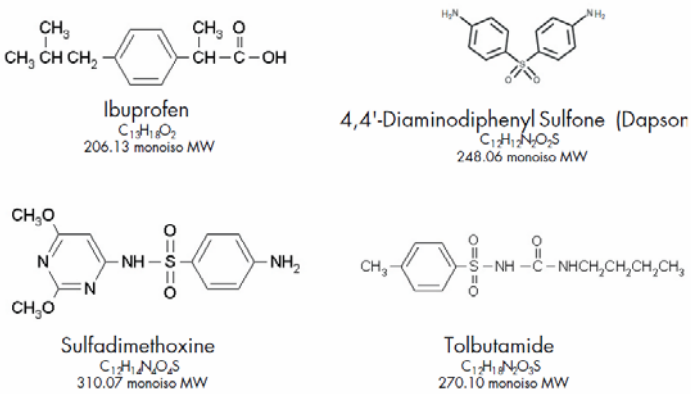

図1　4種類の試料化合物

LC条件

Instrument:	Waters ACQUITY UPLC System		
Column:	Waters ACQUITY UPLC BEH C_{18} Column, 2.1 x 50 mm, 1.7 µm		
Flow Rate:	1 mL/minute (400 mL/minute into the MS)		
Mobile Phase:	A. 10 mM NH_4OAc in ACN/Water 10/90, pH 5.0		
	B. 10 mM NH_4OAc in ACN/Water 95/5, pH 5.0		
Gradient:	Time	A%	Curve
	0.00	90%	6
	0.4	5%	6
	0.5	5%	1
	1.0	90%	1
Injection Volume:	5 µL		

MS条件

Instrument:	Waters Micromass® Quattro Premier Tandem Quadrupole Mass Spectrometer	
Software:	MassLynx™ 4.0 SP4 with ESCi enabled	
Tune Page Parameters:		
	ESCi Multi-mode ionization enabled from tune page	
	ESI Capillary Voltage:	3.0 kV
	APCI Corona Current:	4.0 µA
	Source Temp.:	130 °C
	Desolvation Temp.:	420 °C
	Desolvation Gas Flow:	980 L/Hr
	Cone Gas Flow:	50 L/Hr
Data Collection:	MRM with simultaneous ESI+/ESI-/APCI-/APCI+ on-the-fly during each injection	
Inter-scan Delay:	20 ms	
Inter-Channel Delay:	5 ms	
Dwell Times:	ESI+: 5 ms	APCI-: 10 ms
	ESI-: 20 ms	APCI+: 10 ms

結果

表1に示された各イオン化モードに対する結果[2]を参考にして、得られたMRMクロマトグラムを図2にお示し致します。LCの分離には、UPLC®を用い分析時間を1分、注入間隔1.5分、各成分のピーク幅約1.8秒、各ピークに対し約15データポイントにて分析を行いました。図3及び表2に、4種類の化合物に対するダイナミックレンジ、直線性及び検出限界をお示し致します。これらの分析は、1回の注入でイオン化モード及び極性を変え（ESI＋/ESI-/APCI-/APCI＋） 4つの化合物の分析を行ったものですが、良好な直線性及び検出限界を得ることが出来ました。

表1　各イオン化モードに対する結果

	ESI+	ESI-	APCI+	APCI-	Ionization Mode	MRM Transition
Daspone	+++	-	+++	-	ESI+	248.9>156.0
Ibuprofen	-	++	-	+	ESI-	205.2>161.0
Sulfadimethoxine	+++	+	+++	+	APCI+	311.2>155.9
Tolbutamide	+++	+++	++	++	APCI-	269.0>170.0

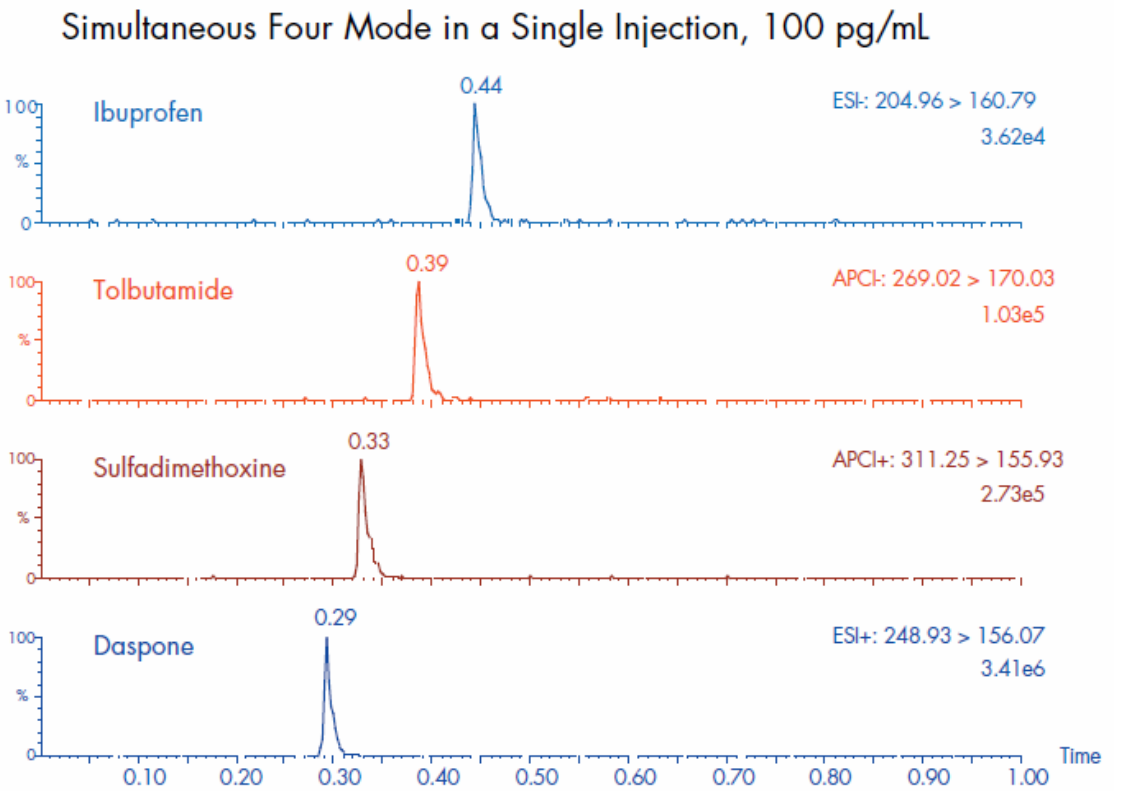

図2　4種類の化合物に対するMRMクロマトグラム

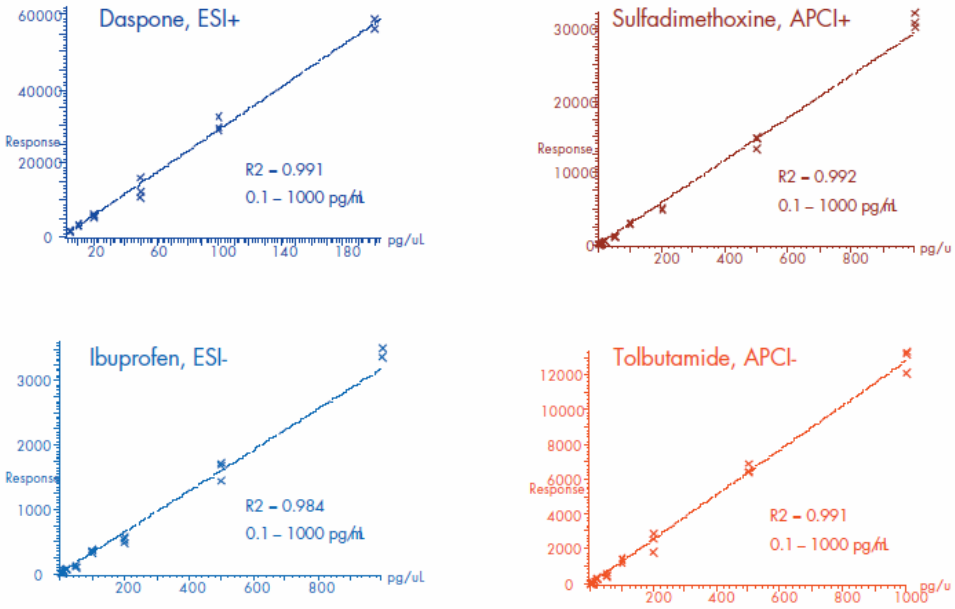

図3　4種類の化合物に対する検量線

表2　**ESCi**による定量結果

	Ionization Mode	Linear Range (ng/mL)	r^2	Limit of Detection (ng/mL, 5 mL Inj)
Daspone	ESI+	0.01 - 200	0.991	0.01
Ibuprofen	ESI-	0.1 - 100	0.984	0.1
Sulfadimethoxine	APCI+	0.1 - 1000	0.992	0.01
Tolbutamide	APCI-	0.1 - 1000	0.992	0.1

参考文献

1. R. Gallagher, M. Balogh, P. Davey, M. Jackson, I. Sinclair, and L. Southern, Analytical Chemistry, 75, p 973-977, 2003
2. K. Yu, P. Alden, L. Di, S. Li, and E. Kerns, “Applications of ESCi-UPLC™/MSMS in Drug Discovery and Development by ACQUITY UPLC™-QuattroPremier” 21st Montreux LC/MS Symposium on LC/MS and Related Topics, Montreux, Switzerland, November 2004.

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™
日本ウォーターズ株式会社　www.waters.co.jp
東京本社 〒140-0001 東京都品川区北品川1-3-12第5小池ビル　TEL 03-3471-7191 FAX 03-3471-7118
大阪支社 〒532-0011 大阪市淀川区西中島5-14-10カトキチ新大阪ビル11F　TEL 06-6304-8888 FAX 06-6300-1734
ショールーム　東京　大阪
テクニカルセンター　東京　大阪　名古屋　福岡　静岡