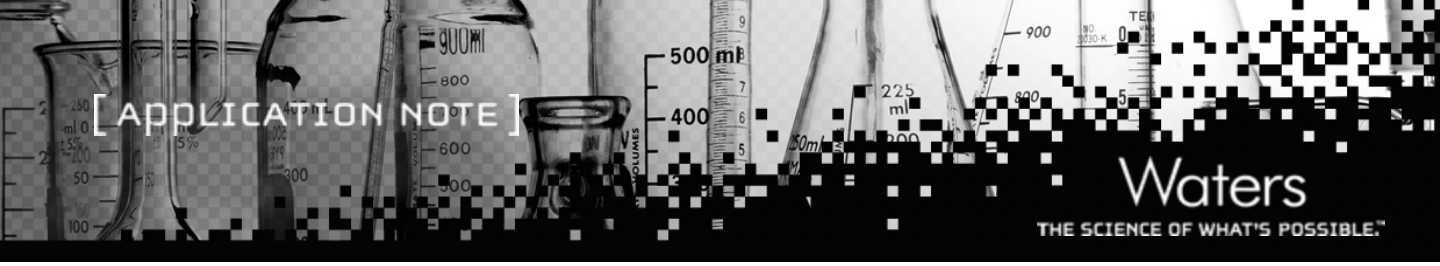

No. 720001246J

医薬品のMS分析におけるイオンサプレッション抑制：ACQUITY UPLC®の利用

概要

医薬品のMSによる分析においては、試料溶液中に含まれる共溶出物質によってしばしば感度が影響を受けます。これらの物質は通常、クロマトグラム上ちょうど中央付近に溶出するリン脂質のような高分子であることが多く、その影響を軽減するため固層抽出（SPE）または長い時間をかけてLC分離が行われる場合があります。一方ACQUITY UPLC®は、分離能、スピード、並びにMS分析を含めた感度の向上が期待できる革新的な技術です。感度の向上は、夾雑物及び目的物質を分離することによって達成されます。
本アプリケーションでは旧来のHPLCを利用したMS分析と比較し、ACQUITY UPLC®の高分離能を利用したMS分析がいかにイオンサプレッションの効果を抑制できるかについてその一例をご紹介いたします。

LC条件
HPLC装置：Alliance® HT システム
UPLC®装置：ACQUITY UPLC® システム
HPLCカラム：BEH C_{18}, 3.5um, 2.1 x 50mm
UPLC®カラム：ACQUITY BEH C_{18} 1.7μm 2.1x 50 mm
カラム温度：40 ℃(HPLC及びUPLC®)
移動相A　：0.1%ギ酸
移動相B　：0.1%ギ酸/MeCN
グラジエント：5-95% B (5 min, HPLC及びUPLC®)
流速　　：270 uL/mL (HPLC)
　　550 uL/min (UPLC®)
注入量　　：5μL (HPLC及びUPLC®)

MS条件
MS　　：LCT Premier™
Ionization　　：ES+
Capillary Voltage：3200 V
Cone Voltage　　：75 V
Source Temp　　：120 ℃
Desolvation Temp：300 ℃
Cone Gas　　：10 L/hr.
Desolvation Gas　：600 L/hr.
Acquisition Range：100-1000 m/z
Scan Duration　　：0.3 sec.
Inter-Scan Delay：0.02 sec.

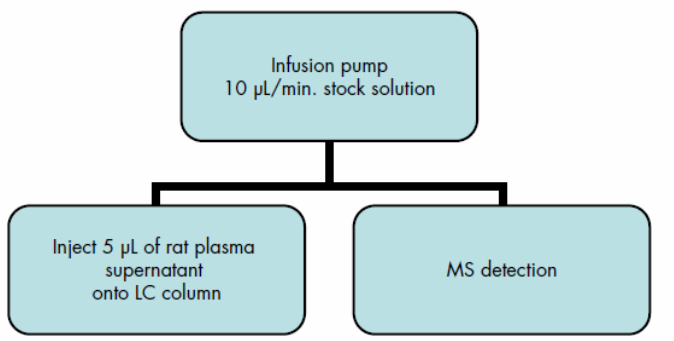

図1　実験スキーム

試料には、Amitriptyline、Doxepin及びVerapamilがそれぞれ100pg/uLとなるようにメタノールで希釈したものを用いました。アセトニトリルで処理されたラット血しょう（2:1）を、2.1 x 50 mm HPLC (3.5 um)及びUPLC® (1.7 um)カラムに注入し、5-95%アセトニトリル（5分間）のグラジエント分析を行いました。

結果及び考察

図2に、UPLC®（上段）及びHPLC（下段）によって得られた前処理したラット血しょうのクロマトグラムをお示しいたします（二つの装置のgradient delayのためデータを標準化）。Verapamilイオンに由来するシグナル（m/z = 455）についてのイオンクロマトグラムですが、共溶出物質の存在がベースライン上のネガティブピークによって示唆されます。UPLC®による分離によってよりシャープなピークが得られ、その結果共溶出物質との分離が改善されています。UPLC®による分離における3.40分から3.75分の間に溶出している3本のピーク、並びに4.15分から4.60分に溶出する2本のピークから、この現象がみてとれます。HPLCによる分析では、これらのピークは部分的にのみ分離されておりますが、UPLC®による分離ではベースライン分離されています。UPLC®では、分析対象物質が共溶出する可能性が低く、イオンサプレッションを抑制することができます。
UPLC®によるクロマトグラフィー分離は、試料の前処理の必要性、並びに生体試料のように複雑なマトリックス中での試料のイオンサプレッションを著しく軽減します。

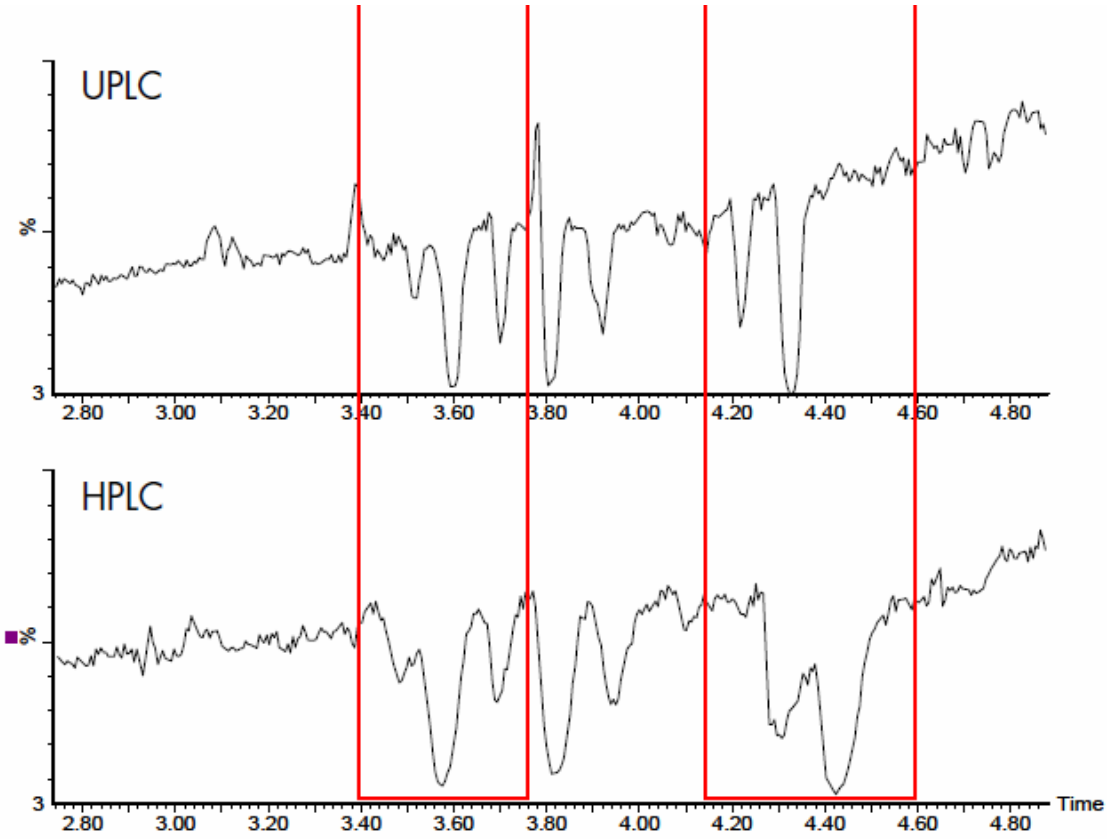

図2　UPLC®（上段）及びHPLC（下段）によるタンパク処理されたラット血しょう試料の分析（XIC, m/z = 455）

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