Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

UPLCおよびXevo TQ-Sを用いた代謝物検出のためのフルスキャン感度の向上

利点

新しいXevo® TQ-Sタンデム四重極型質量分析計は、大幅に感度が向上しているため、通常の四重極型質量分析計よりも低濃度の測定を行うことができ、代謝物の構造情報を得るのに有用です。

ウォーターズのソリューション

Xevo TQ-S

ACQUITY UPLC®

ACQUITY UPLC BEH カラム

MassLynx™ および TargetLynx™

キーワード

StepWave™、 T-Wave™、

代謝物検出、イブプロフェン

はじめに

医薬品探索のDMPK試験では、短時間で代謝物検出ができると、プロジェクトチームが並行して合成している化合物のうち同じ骨格を持つ化合物を迅速に評価、比較することが可能となります。定量と定性の両方のデータを1回のインジェクションで同時に得ることで、ラボの生産性が改善されることになります。これは特に、毎週数百もの新たな候補化合物を分析する医薬品探索の段階では重要です。生産性の問題を解決するためには、一台で高感度定量と定性分析ができる装置が必要です。

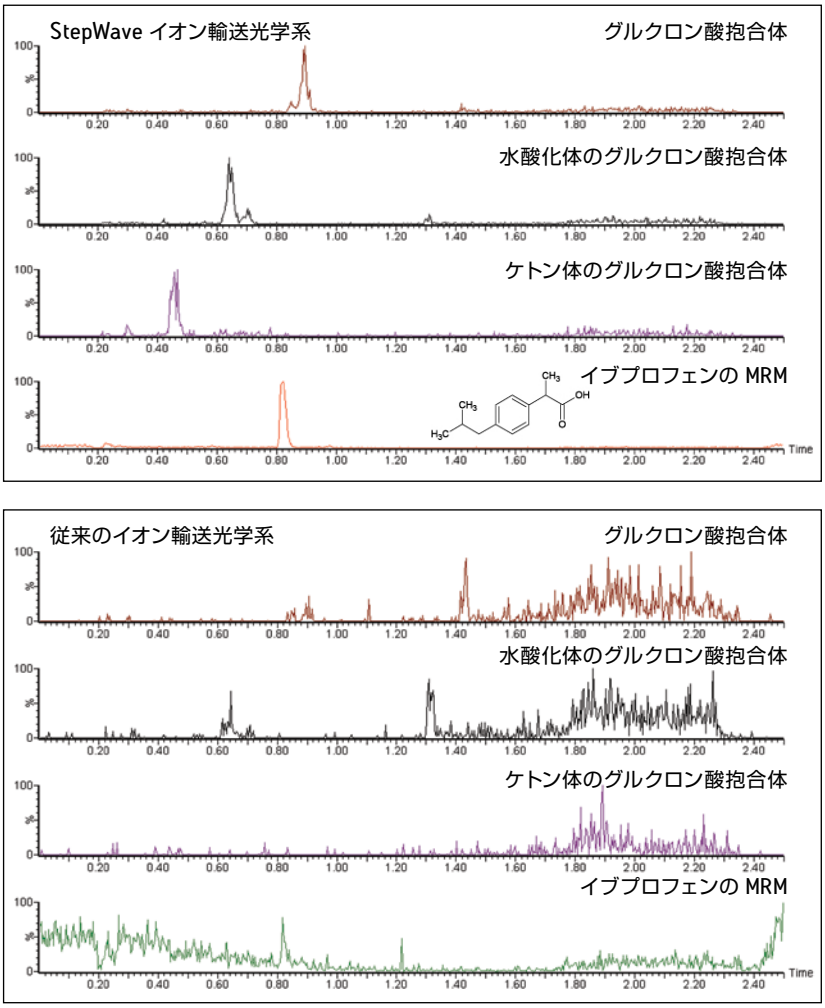


図1. StepWaveイオン輸送光学系および従来型のイオン輸送光学系を用いたシステムによる、イブプロフェンのグルクロン酸抱合体(*m/z* 381), 水酸化体のグルクロン酸抱合体(*m/z* 397), およびケトン体のグルクロン酸抱合体(*m/z* 411)のマスクロマトグラム

EXPERIMENTAL

LC条件

LCシステム:	ACQUITY UPLC (バイナリーソルベントマネージャ、サンプルマネージャ、カラムオーブン)
LC カラム:	ACQUITY UPLC BEH C_{18} 1.7 µm、2.1 x 50 mm
カラム温度:	40.0 ℃
グラジエント:	A: 0.1%アンモニア水 B: アセトニトリル、 5〜95%B （1.5分）
流速:	0.6 mL/min
注入量:	10 µL

MS条件

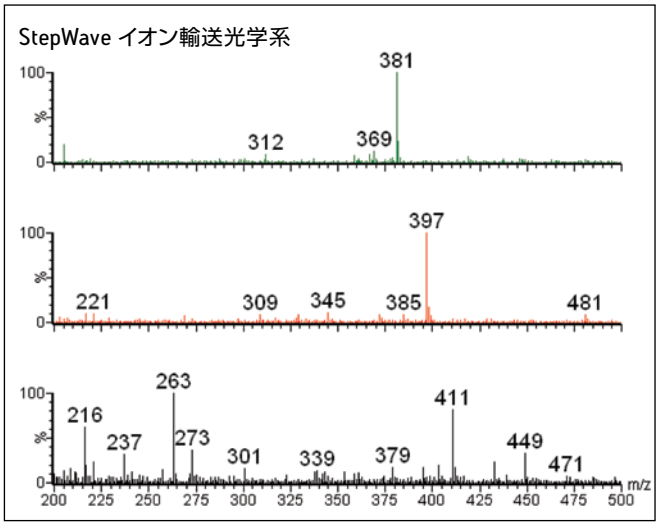
MS システム:	Xevo TQ-S および Xevo TQ ESIネガティブモード
フルスキャンデータ取り込み:	スキャン範囲 m/z 200〜600
	MRM データ取り込み 205 › 161
電圧:	キャピラリー、コーン電圧、コリジョンエネルギーおよびコーンガス流量はシステムごとに最適化した値を使用
コリジョンエネルギー:	7 eV（MRM 取り込み）、 3 eV（フルスキャン取り込み）
イオン源温度:	140 ℃
脱溶媒ガス温度:	625 ℃
脱溶媒ガス流量:	1200 L/hr

データ解析ソフト
MassLynx 4.1

LC/MS/MSは、医薬品の代謝物分析において、定量分析を行うための選択肢の一つです。しかしながら、フルスキャン分析を行う場合には、イオントラップや飛行時間型のシステムと比べて感度的に不利と考えられています。Xevo TQ-Sタンデム四重極型質量分析計は、定量および定性試験の感度を飛躍的に向上する、斬新なStepWaveイオン輸送光学系およびサンプリング効率の良好なオリフィスを装備しています。ここでは、一般的な非ステロイド系の抗炎症薬(NSAID)であるイブプロフェンの代謝を例に、新しいStepWaveによるフルスキャンの高感度化について、ご紹介いたします。

結果および考察

血漿や尿などの生体試料に含まれる、低濃度の医薬品代謝物の検出が可能であれば、ラットやマウスに対して非常に低い投与量で探索段階における候補化合物に関する必要な情報が得られます。しかしながら、これらを実現するために、高感度なフルスキャンデータ取り込みが可能な装置が必要です。タンデム四重極型の質量分析計は、定量のためのMRM(multiple reaction monitoring)モードで最も高感度が得られますが、フルスキャンモードでは一般に感度が大幅に低下します。つまり、定性および定量のデータ取り込みを行う場合、別々の装置でそれぞれ分析を行わなくてはならず、生産性を低下させます。



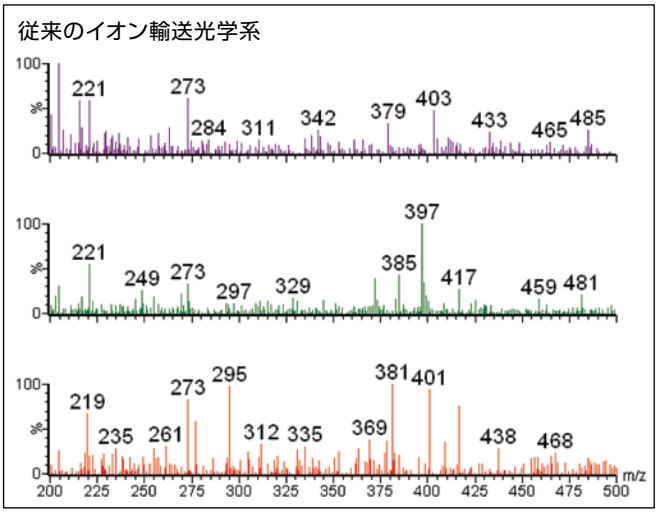


図2. StepWave および従来のイオン輸送光学系を用いた、グルクロン酸抱合体(*m/z* 381), 水酸化体のグルクロン酸抱合体(*m/z* 397) およびケトン体のグルクロン酸抱合体(*m/z* 411)のフルスキャンマススペクトル

Xevo TQ-Sは、新しいタンデム四重極型質量分析計で、イオン源からMSアナライザへのイオン輸送効率を飛躍的に向上する、最新のStepWaveイオン輸送光学系を装備しています。イオン輸送部分は、二つのリングからなるoff-axis電極を積層した構造となっており、分析対象とするイオンだけを直接アナライザ領域へと誘導します。そしてコリジョンセルにはScanWaveテクノロジーが使用されており、プロダクトイオンの輸送効率が改善されています。コリジョンセル内でイオンは蓄積、*m/z*に応じて分離されます。このイオンの放出は、後段の四重極のスキャンと同期しているため、プロダクトイオンの透過率が大きく改善され、その結果としてプロダクトイオンスペクトルの感度が向上しています。

図1のデータは、従来のイオン輸送光学系および新しいStepWaveイオン輸送光学系を用いたタンデム四重極型質量分析計を使用して得られた、ネガティブイオンのフルスキャン感度を比較したものです。この例で用いられた尿サンプルは、100 mgのイブプロフェンをボランティアに経口投与2時間後に採取されたもので、水で1000分の1に希釈してシステムに注入しました。得られたデータからマスクロマトグラムを抽出したところ、3種類の一般によく知られるイブプロフェンの代謝物が検出されました。従来の装置では検出することができなかったイブプロフェンとその代謝物が、StepWaveが装備された新しい質量分析計では、明確に検出されました。

図2に、従来型および新しい装置で得られたフルスキャンマススペクトルを示しました。この例から、3種類の代謝物について、新しい装置では質の高いフルスキャンスペクトルが得られており、従来の装置では検出が難しいことがわかります。*m/z* 381はイブプロフェンのグルクロン酸抱合体、*m/z* 411はケトン体のグルクロン酸抱合体、*m/z* 397は水酸化体のグルクロン酸抱合体です。

新しいXevoTQ-Sによる感度向上は、代謝物検出とフルスキャンデータの取得を可能にするだけでなく、図3に示すように高感度なプロダクトイオン検出が可能になります。グルクロン酸抱合全体である*m/z* 381からは、3種類のプロダクトイオン、*m/z* 205, 192および113が、水酸化体のグルクロン酸抱合体である*m/z* 397からは、プロダクトイオン *m/z* 221, 192および113が、ケトン体のグルクロン酸抱合体である*m/z* 411からは、2種類の主なプロダクトイオンである*m/z* 174および113が検出されています。

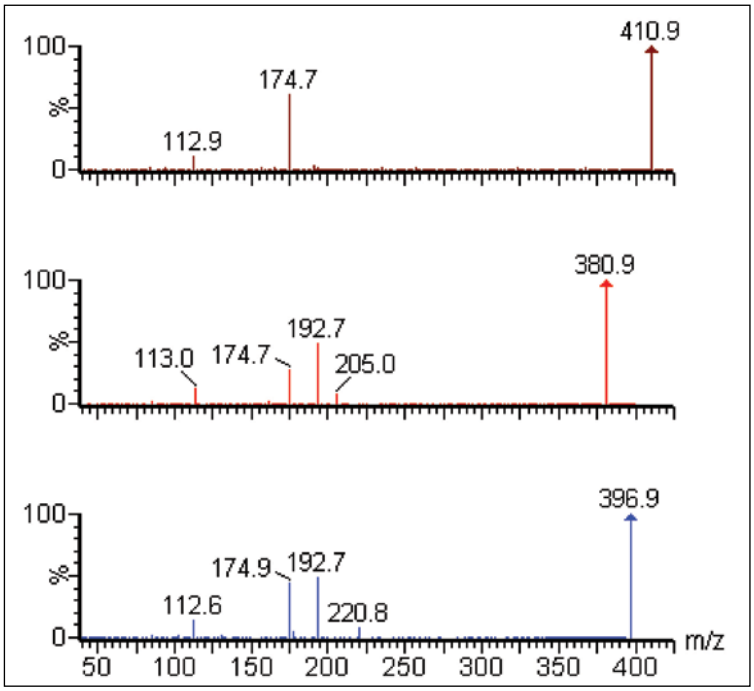


図3. イブプロフェンのヒト尿中代謝物のプロダクトイオンスペクトル。ケトン体のグルクロン酸抱合体 *m/z* 411(上段)、グルクロン酸抱合体 *m/z* 381 (中段), および水酸化体のグルクロン酸抱合体 *m/z* 397(下段)

結論

生体試料中の医薬品代謝物分析の迅速検出および同定は、医薬品探索において重要な役割を担っています。低い投与量においても代謝物の検出と構造情報の取得が可能であれば、より少量の化合物を用い、より早期に代謝物の確認が可能となり、ひいては開発コストの削減につながります。Xevo TQ-Sは、極めて低濃度での代謝物検出を可能にする、最新のイオン輸送光学系を装備した、新しいタンデム四重極型質量分析計です。Xevo TQ-Sは、1回の分析でMRMおよびフルスキャンデータ取り込みが同時にできるRADARを装備しています。これらの斬新な特長を持つ、Xevo TQ-Sを用いることにより、以下の項目が可能となります。:

- 極めて低濃度での代謝物検出
- MRMおよびフルスキャンMSデータの同時取り込み
- 不要な繰り返し分析の回避
- 非常に低濃度でのMS/MSデータ取り込み

適用規格：JISQ9001:2008(ISO9001:2008)
登録番号：JMAQA-331 登録日：1999年05月31日
審査登録範囲：理科学機器（液体クロマトグラフ・質量分析装置・ データ管理システム等）の輸入・販売から保守業務までのトータルサポート及び保守プランの設計・開発

Waters、Xevo、ACQUITY UPLC および UPLC は Waters Corporationの登録商標です。MassLynx、TargetLynx、StepWave、T-Wave および The Science of What's Possible は Waters Corporationの商標です。
その他すべての登録商標はそれぞれの所有者に帰属します。

このISO9001認証登録ロゴは、Waters Corporationのものです。

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 サムティ新大阪フロントビル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

©2010 Waters Corporation. Printed in the Japan.
2010年9月 720003416JA

720003416JA 09A